

Aus dem Institut für Tierernährung
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor Prof. Dr.Dr.h.c. M. Wanner

Arbeit unter der Leitung von PD Dr. A. Liesegang

**Effekte des "Periost stripping" auf die Parameter des Knochen- und
Knorpelstoffwechsels von Fohlen und Lämmern**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Regula Giezendanner

Tierärztin
von Neunforn TG und Ebnet Kappel, Kappel SG

genehmigt auf Antrag von

PD Dr. A. Liesegang, Referentin
Prof. Dr. B. von Rechenberg, Korreferentin

Zürich 2009

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1. ZUSAMMENFASSUNG

2. SUMMARY

3. EINLEITUNG	1
3.1. Ziel der Arbeit	1
3.2. Der Knochen	2
3.2.1. Knochenwachstum	4
3.2.1.1. Hormonelle Regulierung	4
3.2.1.2. Lokale Regulierung	6
3.2.2. Calciumhomöostase	9
3.2.2.1. Vitamin D	9
3.2.2.2. Parathormon	10
3.2.2.3. Calcitonin	11
3.3. Achsenfehlstellungen bei Fohlen	13
3.3.1. Ursache und Vorkommen von Achsenfehlstellungen	13
3.3.2. Therapiemethoden	16
3.3.2.1. Konservative Therapie	16
3.3.2.2. Chirurgische Therapie	16
3.3.2.3. Diskussion der Therapiemethoden	18
3.4. Nachweismethoden für den Knochenmetabolismus	19
3.4.1. Knochenmarker	19
3.4.1.1. Marker des Knochenaufbaus	20
3.4.1.1.1. Osteocalcin (OC)	20
3.4.1.1.2. Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)	22
3.4.1.2. Marker des Knochenabbaus	23
3.4.1.2.1. Quervernetztes carboxyterminales Telopeptid des Typ-I-Kollagens (ICTP)	23
3.4.1.2.2. Carboxyterminales Telopeptid-Fragment von Typ-I-Kollagen (CTX-I)	25
3.4.2. Knorpelmarker	26
3.4.2.1. Aufbaumarker: Prokollagen II C-Propeptid (CPII)	28
3.4.2.2. Abbaumarker: Carboxyterminales Telopeptid-Fragment des Typ-II-Kollagens (CTX-II)	28
3.4.3. Radiologische Techniken	29
3.4.3.1. Quantitative Computertomographie (QCT) und periphere quantitative Computertomographie (pQCT)	29
3.4.3.2. Andere nichtinvasive Verfahren	32
4. TIERE, MATERIAL UND METHODEN	34
4.1. Versuchstiere	34
4.1.1. Lämmer	34
4.1.1.1. Gruppeneinteilung	34

Inhaltsverzeichnis

4.1.1.2.	Haltung, Futter und Fütterung.....	34
4.1.1.3.	Versuchsanordnung.....	35
4.1.1.4.	Operation.....	36
4.1.2.	Fohlen.....	38
4.1.2.1.	Gruppeneinteilung.....	38
4.1.2.1.	Haltung, Futter und Fütterung.....	38
4.1.2.3.	Versuchsanordnung.....	38
4.2.	Blutentnahmen und Laboranalysen.....	39
4.2.1.	Bestimmung des 1,25-(OH) ₂ Vitamin D im Serum.....	39
4.2.2.	Bestimmung der Knochen- und Knorpelmarker im Serum.....	39
4.2.2.1.	Bestimmung des OC.....	39
4.2.2.2.	Bestimmung der bAP.....	40
4.2.2.3.	Bestimmung des ICTP.....	40
4.2.2.4.	Bestimmung des CTX-I.....	40
4.2.2.5.	Bestimmung des CPII.....	41
4.2.2.6.	Bestimmung des CTX-II.....	41
4.3.	Knochenparameter.....	42
4.3.1.	Bestimmung von Knochendichte und -mineralstoffgehalt.....	42
4.3.2.	Auswertung der Messdaten.....	42
4.4.	Immunhistochemie.....	42
4.5.	Statistische Analyse.....	46
5.	RESULTATE.....	47
5.1.	Allgemeines.....	47
5.2.	Gesundheit der Tiere.....	47
5.3.	Gewichtsentwicklung.....	47
5.4.	Blutwerte Lämmer.....	48
5.4.1.	Verlauf der 1,25 (OH) ₂ Vitamin D-Konzentrationen im Serum.....	48
5.4.2.	Verlauf der OC-Konzentrationen im Serum.....	49
5.4.3.	Verlauf der bAP-Aktivitäten im Serum.....	50
5.4.4.	Verlauf der ICTP-Konzentrationen im Serum.....	51
5.4.5.	Verlauf der CTX-I-Konzentrationen im Serum.....	52
5.4.6.	Abhängigkeit von OC und ICTP.....	53
5.4.6.1.	Quotient OC/ICTP.....	53
5.4.6.2.	Korrelation zwischen OC und ICTP.....	54
5.4.7.	Verlauf der CPII-Konzentrationen im Serum.....	55
5.4.8.	Verlauf der CTX-II Konzentrationen im Serum.....	56
5.4.9.	Abhängigkeit von CPII und CTX-II.....	57
5.4.9.1.	Quotient CPII/CTX-II.....	57
5.4.9.2.	Korrelation zwischen CPII und CTX-II.....	58
5.5.	Blutwerte Fohlen.....	59
5.5.1.	Verlauf der 1,25 (OH) ₂ Vitamin D-Konzentrationen im Serum.....	59
5.5.2.	Verlauf der OC-Konzentrationen im Serum.....	60
5.5.3.	Verlauf der bAP-Aktivitäten im Serum.....	61
5.5.4.	Verlauf der ICTP-Konzentrationen im Serum.....	62
5.5.5.	Verlauf der CTX-I-Konzentrationen im Serum.....	63

5.5.6.	Abhängigkeit von OC und ICTP.....	64
5.5.6.1.	Quotient OC/ICTP.....	64
5.5.6.2.	Korrelation zwischen OC und ICTP.....	65
5.5.7.	Verlauf der CII-Konzentrationen im Serum.....	66
5.5.8.	Verlauf der CTX-II Konzentrationen im Serum.....	67
5.5.9.	Abhängigkeit von CII und CTX-II.....	68
5.5.9.1.	Quotient CII/CTX-II.....	68
5.5.9.2.	Korrelation zwischen CII und CTX-II.....	68
5.6.	Knochenparameter der Lämmer.....	69
5.6.1.	Messungen der Knochendichte (BMD) mittels pQCT.....	72
5.6.1.1.	Vergleich der totalen Knochendichten (BMD _{tot}) am Beispiel des Metatarsus.....	72
5.6.1.2.	Vergleich der kortikalen Knochendichten (BMD _{crt}) am Beispiel des Metatarsus.....	73
5.6.1.3.	Vergleich der trabekulären Knochendichten (BMD _{trab}) am Beispiel des Metatarsus.....	74
5.6.2.	Messungen des Mineralstoffgehaltes (BMC) mittels pQCT.....	75
5.6.2.1.	Vergleich des totalen Mineralstoffgehaltes (BMC _{tot}) am Beispiel des Metatarsus.....	75
5.6.2.2.	Vergleich des kortikalen Mineralstoffgehaltes (BMC _{crt}) am Beispiel des Metatarsus.....	76
5.6.2.3.	Vergleich des trabekulären Mineralstoffgehaltes (BMC _{trab}) am Beispiel des Metatarsus.....	77
5.6.3.	Korrelation von BMC und BMD.....	78
5.6.3.1.	Korrelation von BMC _{tot} und BMD _{tot} des Metatarsus.....	78
5.6.3.2.	Korrelation von BMC _{crt} und BMD _{crt} des Metatarsus.....	78
5.6.3.3.	Korrelation von BMC _{trab} und BMD _{trab} des Metatarsus.....	79
5.7.	Immunhistochemie der Lämmerknochen.....	80
6.	DISKUSSION.....	82
6.1.	Schlussfolgerung.....	95
7.	LITERATURVERZEICHNIS.....	96
8.	ANHANG.....	119
9.	DANKSAGUNG.....	126

LEBENS LAUF

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

3D-QCT	Dreidimensionale quantitative Computertomographie
μCT	Micro Computertomogramm
μg	Mikrogramm
ADF	Acid Detergent Fibre
ADL	Acide Detergent Lignin
ANOVA	Varianzanalyse
bAP	Knochenspezifische (bone specific) alkalische Phosphatase
BE	Blutentnahme
BMC _{crt}	cortical Bone Mineral Content (kortikaler Mineralstoffgehalt)
BMC _{tot}	total Bone Mineral Content (totaler Mineralstoffgehalt)
BMC _{trab}	trabecular Bone Mineral Content (trabekulärer Mineralstoffgehalt)
BMD _{crt}	cortical Bone Mineral Density (kortikale Knochendichte)
BMD _{tot}	total Bone Mineral Density (totale Knochendichte)
BMD _{trab}	trabecular Bone Mineral Density (trabekuläre Knochendichte)
BMP	Bone Morphogenetic Protein
C	Kohlenstoff
C2C	Carboxyterminales Telopeptid-Fragment des Typ-II-Kollagens
Ca	Calcium
CPII	Prokollagen II C-Propeptid
CTX-I	Carboxyterminales Telopeptid-Fragment von Typ-I-Kollagen (Crosslaps)
CTX-II	C-terminales Telopeptid von Typ-II-Kollagen
DXA	Dual X-Ray Absorptiometry
EIA	Enzymimmunoassay
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FGF	Fibroblast Growth Factor
GH	Growth Hormone
HCl	Salzsäure
HCl unl. A.	Salzsäure-unlösliche Asche
HCTP	Hemicircumferential transection of the periosteum
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
HYP	Hydroxyprolin
ICTP	Carboxyterminales Telopeptid des Typ-I-Kollagens
I.E.	Internationale Einheiten
IGF	Insulin-like Growth Factor
Ihh	Indian hedgehog
kD	Kilodalton
KD	Knochendichte
KGW	Körpergewicht
mg	Milligramm
Mg	Magnesium
MRI	Magnet Resonance Imaging
müM.	Meter über Meer
NDF	Neutral Detergent Fibre
OC	Osteocalcin
OS	Organische Substanz
P	Phosphor
PICP, PINP	Kollagenpropeptide
pQCT	periphere Computertomographie

Abkürzungsverzeichnis

PS	Periosteal Stripping
PTH	Parathormon
PTHrP	Parathyroid hormone-related Protein
PYD	Pyridinolin
QUS	Quantitative Ultrasound
RIA	Radioimmunoassay
STE	Standardfehler
tAP	Gesamt-alkalische Phosphatase
TGF	Transforming Growth Factor
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor alpha
TR	Schilddrüsenhormon-Rezeptor
TS	Trockensubstanz
VitD	1,25-(OH) ₂ Vitamin D

1. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen des "Periost stripping" auf die Parameter des Knochen- und Knorpelstoffwechsels von Fohlen mit Achsenfehlstellungen und gesunden Lämmern untersucht.

Fünf Fohlen mit Achsenfehlstellungen wurden mittels "Hemicircumferential transection of the periosteum and periosteal stripping" (HCTP and PS) operiert. Vor der Operation sowie 10 und 22 Tage danach wurden bei ihnen sowie bei fünf gleichaltrigen, gesunden Kontrollfohlen $1,25(\text{OH})_2$ Vitamin D, Knochen- und Knorpelmarker im Serum bestimmt.

Ebenfalls wurden 10 gesunde Lämmer mittels HCTP and PS operiert. Vor der Operation sowie 2, 6, 10, 14, 18 und 22 Tage danach wurde bei ihnen sowie bei 10 gleichaltrigen, gesunden Kontrolltieren $1,25(\text{OH})_2$ Vitamin D, Knochen- und Knorpelmarker im Serum bestimmt sowie Knochendichte und -mineralgehalt mittels pQCT gemessen. Nach der Schlachtung 22 Tage nach der Operation wurden die operierten Knochen sowie die entsprechenden Knochen der Kontrolltiere entnommen und später immunhistologisch aufbereitet.

Weder bei den Fohlen noch bei den Lämmern konnten bezüglich $1,25(\text{OH})_2$ Vitamin D, Knochen- und Knorpelmarker im Serum signifikante Unterschiede zwischen operierten und nicht operierten Tieren festgestellt werden. Allerdings wiesen sowohl die operierten Fohlen als auch die operierten Lämmer deutlich höhere OC/ICTP-Quotienten im Vergleich zu den nicht operierten Kontrolltieren auf, was auf eine erhöhte Knochenumbaurate als Folge der Operation schliessen lässt. Die Bestimmung von Knochendichte und -mineralgehalt bei den Lämmern ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen operierten und nicht operierten Tieren. Es wird vermutet, dass der Eingriff mittels HCTP and PS zu lokal ist, um systemische Effekte nachzuweisen. Auf lokaler Ebene deuten erste Auswertungen der mittels Immunhistochemie detektierten lokalen Wachstumsfaktoren darauf hin, dass HCTP and PS an der operierten Stelle zu vermehrtem Knochenaufbau führen könnte.

2. Summary

In the present study the effects of "Periosteal stripping" on bone and cartilage metabolism of foals with angular limb deformities and healthy lambs were examined.

Five foals with angular limb deformities were treated by surgery by means of "Hemicircumferential transection of the periosteum and periosteal stripping" (HCTP and PS). Before the surgery as well as 10 and 22 days after surgery, 1,25(OH)₂Vitamin D, bone and cartilage markers in the serum were determined. Five healthy foals of the same age were used as controls. In addition 10 healthy lambs were treated by HCTP and PS. Before the surgery as well as 2, 6, 10, 14, 18 and 22 days after surgery, 1,25(OH)₂Vitamin D, bone and cartilage markers in the serum were determined. Bone mineral density and -content were measured by peripheral quantitative computed tomography (pQCT). As control animals, 10 healthy lambs of the same age were used. 22 days after the surgery the lambs were sacrificed and the treated bones as well as the same bones of the control animals were sampled and processed for later immunohistochemistry.

With regard to 1,25(OH)₂Vitamin D, bone and cartilage markers in the serum, neither in foals nor in lambs significant differences could be observed between treated and untreated animals. The treated foals as well as the treated lambs had revealed OC/ICTP quotients than the untreated control animals. This could be the result of an increased bone remodelling rate following the surgery. No statistically significant difference in bone mineral density and content between treated and untreated animals could be detected. It is supposed that the intervention of HCTP and PS is too local to prove systemic effects, since at a local level the growth factors detected by immunohistochemistry point to the fact that HCTP and PS could lead to increased bone formation at the treated site.

3. Einleitung

3.1. Ziel der Arbeit

Die Periostdurchtrennung und die Ablösung des Periosts vom darunterliegenden Knochen bei Fohlen mit Achsenfehlstellungen ist eine in der Praxis häufig angewandte chirurgische Methode (Auer, 2004; Read et al., 2002). In letzter Zeit wurde verschiedentlich Kritik an der Effizienz dieser Methode geübt. Ziel dieser Arbeit war es, anhand eines Modellversuches an Lämmern allfällige Auswirkungen des "Periost strippings" auf den nativen Vitamin D-Spiegel, auf die Knochen- und Knorpelmarkerkonzentrationen sowie auf die Knochendichte und den Knochenmineralstoffgehalt zu untersuchen. Ausserdem sollte das Vorkommen lokaler Wachstumsfaktoren mittels Immunhistochemie detektiert und somit ein allfällig erhöhtes Knochenwachstum nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden Blutproben von mittels "Periost stripping" operierten Fohlen sowie von gesunden Kontrolltieren bezüglich Veränderungen des Vitamin D-, Knochen- und Knorpelmarkerspiegels untersucht.

3.2. Der Knochen

Die langen Röhrenknochen bestehen aus Diaphyse, Epiphyse und Metaphyse. Zwischen Epiphyse und Diaphyse befinden sich die Epiphysenfugen (Nickel et al., 2004), welche für das Längenwachstum verantwortlich sind (Fretz, et al., 1984; van der Eerden et al., 2003). Diese lassen sich in fünf verschiedene Zonen unterteilen: Reservezone, Proliferationszone, hypertrophe Knorpelzone, verkalkte Knorpelzone und Verknöcherungszone (Gratzl, 2002) (Abb. 1). Jede Zone hat spezifische Zellen mit spezieller Morphologie. Gefäße und mesenchymale Progenitorzellen wachsen von der Metaphyse her ein (Gratzl, 2002). Die Gefäße transportieren das Calcium (Ca) und die für die Ossifikation und den Knochenumbau benötigten Zellen zu den Epiphysenfugen (Nickel et al., 2004) (Abb. 2). Knochenumbau ist ein permanenter, lebenslanger Prozess, charakterisiert durch das Zusammenspiel von Knochenaufbau und Knochenabbau. Reguliert wird der Knochenumbau durch mechanische Belastung, systemische Hormone wie Parathormon (PTH), 1,25 (OH)₂ Vitamin D (VitD) und andere Steroidhormone sowie lokale Faktoren (Schönau und Rauch, 1997; Seibel, 2005). Für den Knochenaufbau sind vor allem Osteoblasten zuständig (Swaminathan, 2001), welche zunächst eine kollagenhaltige Knochengrundsubstanz, das Osteoid, ausscheiden und sich dann zu Osteozyten differenzieren (Nickel et al., 2004). Nach der Mineralisation der extrazellulären Matrix entsteht Geflechtknochen (Junqueira und Carneiro, 1996) (Abb. 3). Osteoblasten spielen in der Verknöcherungszone eine wichtige Rolle, indem sie sich auf der Knorpelmatrix verteilen und die Knochenmatrix bilden. Osteoklasten sind für die Resorption von Knochen, d.h. für den Abbau, verantwortlich (Erben, 2000). Diese schaffen hier Hohlräume, sogenannte Lakunen (Christenson, 1997), in welchen aktiv Ca aus den Knochen herausgelöst und die Grundsubstanz abgebaut wird.

Die Epiphysenfuge ist eine verletzliche, relativ weiche Struktur (Thomas et al., 2005). Wird sie durch Trauma, Röntgenstrahlung oder unbekannte Ursachen beschädigt, so führt dies zu einem vorzeitigen Verschluss der Fuge und damit zu einem "Stop" des Längenwachstums des betroffenen Knochens. Der Schluss der Epiphysenfugen der einzelnen Knochen erfolgt in einer bestimmten Reihenfolge (Fretz, 1984), ist hormonell gesteuert und verunmöglicht ein weiteres Längenwachstum (Gratzl, 2002; Ballock und O'Keefe, 2003).

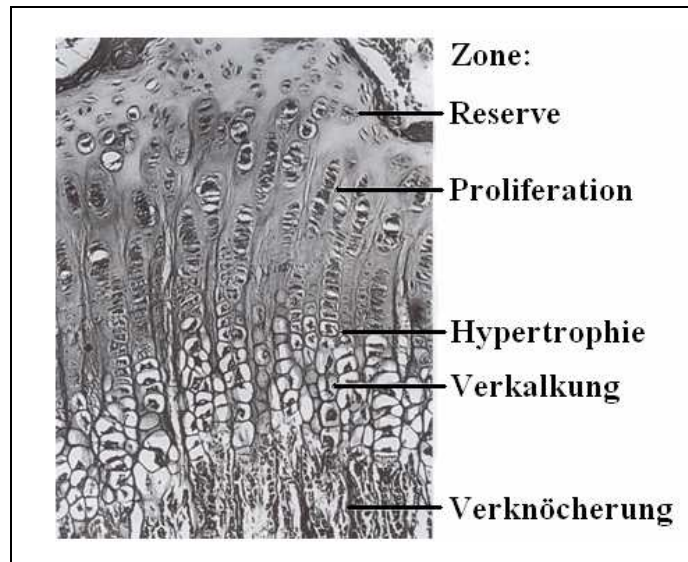


Abb. 1: Längsschnitt durch eine Epiphysenfuge, in der die für das Wachstum wichtigen Zonen markiert sind. (nach Junqueira et al., 1998)

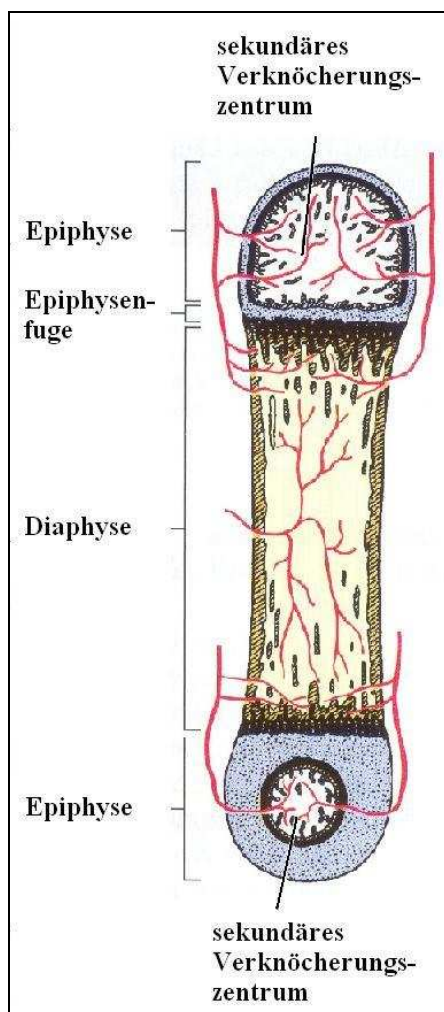


Abb. 2: Enchondrale (= indirekte) Ossifikation in den Epiphysenfugen: Bildung eines Röhrenknochens aus einem Knorpelmodell. (nach Junqueira und Carneiro, 1996)

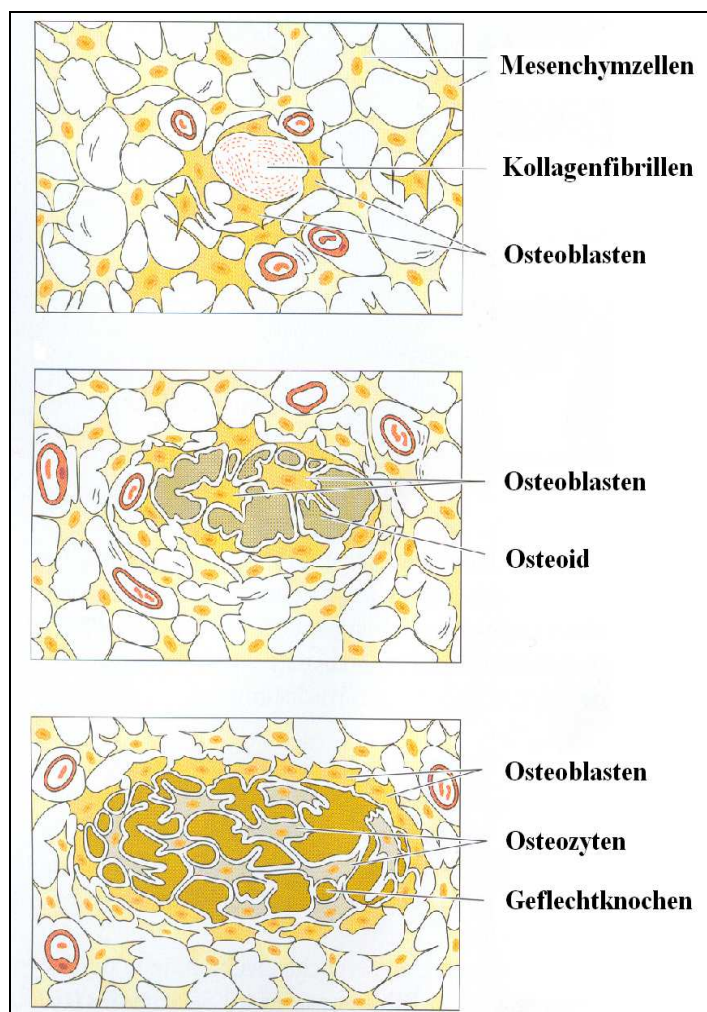


Abb. 3: Desmale (= direkte) Ossifikation: Entstehung von Geflechtknochen im Perichondrium, das die Diaphyse der Röhrenknochen umgibt. (nach Junqueira und Carneiro, 1996)

3.2.1. Knochenwachstum

Die Epiphysenfugen der langen Röhrenknochen sind hauptverantwortlich für das Längenwachstum (van der Eerden et al., 2003). Durch enchondrale Ossifikation wird eine knorpelige Vorstufe in Knochengewebe umgewandelt (Gratzl, 2002). Die am epiphysalen Ende der proximalen und distalen Epiphysenfuge liegende **Reservezone** aus hyalinem Knorpel enthält ruhende Chondrozyten (van der Eerden, 2003), welche eine für Gelenkknorpel typische Matrix aus Typ II-Collagen produzieren (Boylan et al., 2002; Provot und Schipani, 2005). An die Reservezone anschliessend folgt die **Proliferationszone**, in welcher sich kleine, flache Chondrozyten schnell vermehren und Säulen von gestapelten Zellen bilden (Stevens und Williams, 1999). Die grössten proliferativen Zellen verlieren ihre Teilungsfähigkeit und differenzieren sich schliesslich zu hypertrophen Chondrozyten (Kember, 1971). Die Zellen dieser **hypertrophen Knorpelzone** produzieren vor allem Typ X-Collagen und mineralisieren die sie umgebende Matrix (Boylan et al., 2002). Hypertrophe Chondrozyten können bis zur fünffachen Grösse ihres ursprünglichen Cytoplasmavolumens anschwellen (Stevens et al., 1999), bevor sie in der **verkalkten Knorpelzone** durch Apoptose zu Grunde gehen. In der Folge verkalkt die Knorpelmatrix (Gratzl, 2002). In der **Verknöcherungszone** wandern Stammzellen via Blutkapillaren ein. Diese Stammzellen besetzen die Hohlräume, welche durch die zugrundegegangenen hypertrophen Chondrozyten entstanden sind (Gratzl, 2002), differenzieren sich zu Osteoblasten und bilden die Knochenmatrix (Kronenberg, 2003).

An der Regulierung dieses Knochenauf- und -umbaus sind sowohl lokale parakrine Faktoren wie z.B. "Indian hedgehog" (Ihh), "Parathyroid hormone-related protein" (PTHrP) und "Fibroblast growth factors" (FGFs) als auch systemisch wirksame Hormone wie z.B. das Wachstumshormon (GH), "Insulin-like growth factors" (IGFs) und Glucocorticoide beteiligt (van der Eerden et al., 2003; Nilsson et al., 2005; Kronenberg, 2003), welche nachfolgend detailliert besprochen werden. Auch genetische Faktoren, Umweltfaktoren und Ernährung spielen bei der Regulierung eine wichtige Rolle (Stevens und Williams, 1999).

3.2.1.1. Hormonelle Regulierung

Sehr wichtige hormonelle Faktoren für das Längenwachstum von Knochen sind das **Wachstumshormon (GH)** und die **Insulin-like growth factors (IGFs)** (Nilsson et al., 2005). Studien mit Knockout-Mäusen haben gezeigt, dass ein intaktes GH-IGF-I Signalsystem für eine normale Skelettentwicklung unabdingbar ist (Zhou et al., 1997). Andernfalls resultieren schwere Wachstumsverzögerungen sowie verspätete Knochenentwicklung (Stevens und

Williams, 1999). Van der Eerden et al. (2003) vermuteten, dass GH zusammen mit IGF-I eine zentrale Rolle in der Regulierung der Hypothalamus-Hypophysen-Epiphysenfugen-Achse spielt. Die Langzeitverabreichung von hochdosierten **Glucocorticoiden** führte bei Kindern zu einer Hemmung der Chondrozytenproliferation in den Epiphysenfugen und damit zu vermindertem Körperwachstum (Nilsson et al., 2005). Um eine Erklärung für dieses Phänomen zu finden, untersuchten Silvestrini et al. (2000) die Glucocorticoid-Wirkungen bei juvenilen Ratten. Dabei konnte eine erhöhte Apoptoserate in den hypertrophen Chondrozyten sowie eine verminderte Anzahl Glucocorticoidrezeptoren in den proliferativen Chondrozyten festgestellt werden. Interessant war die Tatsache, dass diese Veränderungen reversibel waren und sich darum die Werte in der Rekonvaleszenzphase wieder normalisierten. Die **Schilddrüsenhormone T3 und T4** sind für normales Knochenwachstum unabdingbar (Nilsson et al., 2005; Bassett et al., 2006). Ihre Aktivität wird vor allem über Schilddrüsenhormon-Rezeptoren (TR) gesteuert, welche in verschiedene Klassen unterteilt werden. Die wichtigsten werden α - und β -Rezeptoren genannt (Robson et al., 2000). Transgene Mäuse ohne TR α zeigten verzögertes Längenwachstum, Störungen der säulenartigen Anordnung der Chondrozyten in den Epiphysenfugen sowie eine gestörte Chondrozytenhypertrophie. Bei Mäusen ohne TR β konnten keine Wachstumsverzögerungen festgestellt werden (Shao et al., 2006). Hypothyroide Tiere zeigten nebst klinischen Symptomen wie Haarverlust, Hypertension, Bradykardie, Myxödem und Kretinismus in den Epiphysenfugen verminderte Chondrozytenproliferation und -hypertrophie (Robson et al., 2000). Shao et al. (2006) diskutierten einen modulierenden Einfluss der Schilddrüsenhormone auf GH und IGFs. Die Geschlechtshormone, **Östrogene** und **Androgene**, spielen vor allem während der Pubertät eine wichtige Rolle, was seit längerem bekannt ist (van der Eerden, 2003; Irie et al., 2005). Die Auswirkungen von Östrogen auf die Funktion der Chondrozyten in der Epiphysenfuge und generell auf den Prozess der enchondralen Ossifikation ist dagegen bis heute unklar (Rodd et al., 2003). Juul (2001) vermutete, dass Östrogene die GH-Sekretion stimulieren, damit IGF-I erhöhen und so das Wachstum stimulieren. Ausserdem sollen Östrogene zu einer frühen Erschöpfung des Proliferationspools und damit zu einem vorzeitigen Verschluss der Epiphysenfuge führen (Weise et al., 2001). Im Mausmodell konnte von Maor et al. (1999) gezeigt werden, dass Testosteron und in etwas geringerem Ausmass auch Dihydrotestosteron eine stimulierende Wirkung auf die Chondrozytenproliferation haben. **Leptin** reguliert im Körper die Nahrungsaufnahme und das Körpergewicht (Nilsson et al., 2005). Eine Studie von Kume et al. (2001) lässt vermuten, dass Leptin das Längenwachstum der Knochen via Regulation der Angiogenese in den Epiphysenfugen

beeinflusst. Kishida et al. (2005) demonstrierten im Mausmodell, dass Leptin in ruhenden und prähypertrophen Chondrozyten exprimiert wird, Leptin-Rezeptoren hingegen in hypertrophen Chondrozyten. Ferner konnten sie zeigen, dass Leptin eine modulierende Wirkung auf die Chondrozytenproliferation ausübt. Dazu wurden knock-out-Mäuse verwendet, welche in der proliferativen Zone sowie der hypertrophen Zone eine verminderte Säulenstruktur aufwiesen, in den hypertrophen Knorpelzellen dagegen eine verfrühte Mineralisation stattfand. Ausserdem waren deutlich mehr apoptotische Chondrozyten vorhanden als bei normalen Mäusen, und die Wachstumsfuge war insgesamt deutlich fragiler. Pogoda et al. (2006) zeigten, dass zuviel Leptin bei Schafen die Knochenformation hemmt. Via intracerebroventrikuläre Infusion wurde den Tieren kontinuierlich Leptin in einer Dosierung von 8µg/h über drei Monate zugeführt, was die Osteoblastenaktivität signifikant reduzierte. Dies konnte mit zellulärer Histomorphometrie anhand der Anzahl der Osteoblasten und mit Hilfe eines Oberflächenindex nachgewiesen werden. Die wachstumsregulierende Wirkung von **Vitamin D** wird im Kapitel 3.2.2.1. ausführlich besprochen.

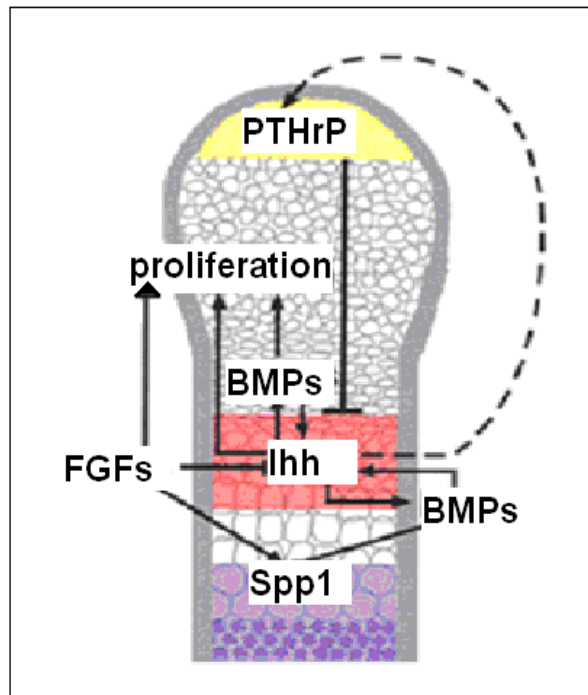
3.2.1.2. Lokale Regulierung

Einer der Hauptregulatoren des Knochenauf- und -umbaus ist der parakrine Faktor "**Indian hedgehog**" (**Ihh**). Dieser hat eine koordinierende Wirkung auf die Chondrozytenproliferation, die Chondrozytendifferenzierung sowie auf die Osteoblastendifferenzierung (Chung et al., 2001; Kronenberg, 2003). Ihh wird von Chondrozyten synthetisiert und kommt in der Epiphysenfuge vor allem in der Übergangszone zwischen proliferativen und hypertrophen Zellen vor (Provot und Schipani, 2005). Maeda et al. (2007) konnten am Mausmodell zeigen, dass Ihh auch postnatal essentiell ist. Das von den Chondrozyten produzierte Ihh ist verantwortlich für die normale Funktion einer Epiphysenfuge, für die Ausbildung eines sekundären Ossifikationszentrums und damit für das Längenwachstum des Skeletts. Ihh bindet an verschiedene Rezeptoren an der Zelloberfläche wie Patched (Ptc1 und Ptc 2) und Smoothed (Smo). Smo aktiviert die Transkription von Ptc und Glioma (Gli), einen Transkriptionsfaktor (Jemtland et al., 2003; Semevolos et al., 2006). Ihh stimuliert die Aktivität von "**Parathyroid hormone-related protein**" (**PTHrP**) (Kobayashi et al., 2005), einem parakrinen Faktor, der strukturell homolog zum Parathormon (PTH) ist (Stevens und Williams, 1999). PTHrP wird von frühen proliferativen Chondrozyten gebildet, agiert via den G-Protein-gekoppelten PTH/PTHrP-Rezeptor (PPR) und hat die Aufgabe, die proliferierenden Chondrozyten im proliferativen Pool zurückzuhalten (Ballock und O'Keefe, 2003; Kronenberg, 2003; MacLean und Kronenberg, 2005). Dies geschieht mittels Hemmung

der Ihh-Produktion, womit ein negatives Ihh-PTHrP feedback entsteht (Provot und Schipani, 2005; Vortkamp et al., 1996) (Abb. 4). Die Interaktion Ihh/PTHrP bestimmt also die individuelle Länge der Knorpelzellsäule im Knochen. Falls PTHrP fehlt, wird die Grenze zwischen proliferativen und hypertrophen Chondrozyten verwischt und es entsteht ein Gemisch aus proliferativen und hypertrophen Zellen (Kronenberg, 2003). Semevolos et al. (2002) vermuten, dass Veränderungen im Ihh/PTHrP-Verhältnis eine wichtige Rolle in der Entstehung von equiner Osteochondrose spielen.

Die Familie der "**fibroblast growth factors**" (**FGF**) umfasst mindestens 22 Mitglieder, welche an der Regulation der embryonalen Knochenentwicklung, vor allem an der Chondrozytenproliferation und -differenzierung, beteiligt sind (van der Eerden et al., 2003; Kronenberg, 2003). Ein essentieller Einfluss auf sämtliche Stadien der enchondralen Ossifikation wird den "**bone morphogenetic proteins**" (**BMP**) zugeschrieben (Kronenberg, 2003), welche alle zur Gruppe der "**transforming growth factors β** " (**TGF β**) gehören (van der Eerden, 2003). BMPs beeinflussen die Interaktion von Ihh und PTHrP und damit die Chondrozytenproliferation respektive die Länge der Knorpelzellsäule (Minina et al., 2001; Minina et al., 2002). Chubinskaya und Kuettner (2003) untersuchten die Wirkung von BMPs im Knorpel von Erwachsenen und adulten Ratten und sehen ein therapeutisches Potential bei der Regeneration von Knorpelgewebe. Beim "**vascular derived endothelial growth factor**" (**VEGF**) handelt es sich um einen wichtigen Botenstoff der Angiogenese, der unter anderem in den Chondrozyten der Wachstumsfuge nachgewiesen werden konnte (Petersen et al., 2002). Es wird vermutet, dass VEGF zur Apoptose der Chondrozyten in der Wachstumsfuge beiträgt, indem er die Freisetzung eines pro-apoptotischen Faktors aus den Blutgefäßen vermittelt (Pfander et al., 2001). VEGF ist einer der wichtigsten Faktoren in der Blutgefäßentwicklung und wird nur in hypertrophen, nicht jedoch in ruhenden und proliferierenden Chondrozyten produziert (Petersen et al., 2002). Juvenile Mäuse mit inaktivierter VEGF-Produktion in den hypertrophen Chondrozyten der Wachstumsfuge wiesen eine verminderte Einsprossung von Blutgefäßen aus der Metaphyse in die Epiphysenfuge auf, was zu einer Störung der enchondralen Ossifikation führte (Gerber et al., 1999).

Neben den oben erwähnten Signalmolekülen Ihh, PTHrP, FGF und BMP spielen auch einige **Transkriptionsfaktoren** wie **Sox-Gene** und **Runx-Gene** eine wichtige Rolle in der Chondrogenese. Der Faktor Sox9 wird von kondensierenden Chondrozyten in der Reservezone des Knorpels gebildet (Vortkamp, 2006), bevor diese in die Proliferationszone übergeht (Shimizu et al., 2007). Die Synthese von Sox9 wird durch FGFs hochreguliert (Murakami et al., 2000). In vivo vermittelt Sox9 die hemmenden Wirkungen von PTHrP auf



----- = negatives Ihh/PTHrP-feedback

→ = Aktivierung

PTHrP: Parathormone-related protein; Spp1: Osteopontin. (nach Minina et al., 2002)

3.2.2. Calciumhomöostase

3.2.2.1. Vitamin D

Vitamin D (Cholecalciferol) kann entweder über die Nahrung aufgenommen oder unter der Einwirkung von UV-Licht in der Epidermis aus 7-Dehydrocholesterol gebildet werden. Beim Menschen und bei frei lebenden Tieren werden 80-90% des Vitamin-D-Bedarfes aus der kutanen Synthese gedeckt, während nur 10-20% aus Nahrungsquellen stammen. Bei nachtaktiven oder unterirdisch lebenden Tieren hingegen kann der Anteil aus der Nahrung wesentlich höher sein (Erben, 2000)

Vitamin D per se ist biologisch nicht aktiv, sondern muss zuerst durch zwei Hydroxylierungsschritte, einen in der Leber und einen in der Niere, zum Vitamin-D-Hormon $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ (Calcitriol) aktiviert werden (Richart et al., 2007). Bei der ersten Hydroxylierung durch eine Monooxygenase in Hepatozyten wird Vitamin D am 25-C-Atom zu $25(\text{OH})\text{VitD}$ (Calcidiol) hydroxyliert. Im Fettgewebe gespeichertes $25(\text{OH})\text{VitD}$ sowie an das Vitamin-D-bindende Protein gebundenes Plasma- $25(\text{OH})\text{VitD}$ stellen die beiden wesentlichen Speicherformen von Vitamin D beim Säugetier dar. Die zweite Hydroxylierung, katalysiert durch eine 1α -Hydroxylase in den Mitochondrien der Zellen der proximalen Nierentubuli, hat durch die Einführung einer Hydroxylgruppe am 1-C-Atom die Synthese von $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ zur Folge. Unter physiologischen Bedingungen kann dieser zweite Hydroxylierungsschritt nur in der Niere erfolgen (Erben, 2000). Die Hydroxylasen spielen in Bezug auf die Calcium-Homöostase eine entscheidende Rolle (Prosser und Jones, 2004). Während die Regulation der hepatischen 25-Hydroxylase von untergeordneter Bedeutung ist, unterliegt die 1α -Hydroxylierung von $25(\text{OH})\text{VitD}$ in der Niere einer strengen Regulation, wobei PTH, $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ und Phosphat die wesentlichsten Einflussfaktoren darstellen. Die renale 1α -Hydroxylierung wird durch PTH aktiviert, durch $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ und Phosphat gehemmt (Erben, 2000). Ausser der 1α -Hydroxylierung findet in der Niere noch eine zweite Hydroxylierungsreaktion statt, nämlich die 24-Hydroxylierung (Tryfonidou et al., 2003). Dabei werden die aktiven Metaboliten des Vitamins D, $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ und $25(\text{OH})\text{VitD}$, durch die 24-Hydroxylierung abgebaut. Die 24-Hydroxylierung ist ein wichtiger Schritt, welcher das Substrat $25(\text{OH})\text{VitD}$ inaktiver macht und zusätzlich in der Zielzelle $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ inaktiviert, denn $24,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ hat eine 10'000 mal geringere biologische Aktivität als $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ (Erben, 2000). Die 24-Hydroxylase wirkt dadurch wie ein molekularer Schalter, der in der Zielzelle VitD-induzierbare Prozesse an- und abschalten kann.

Die biologisch wichtigste Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ liegt in der Stimulation der intestinalen Ca- und Phosphor (P) -resorption. $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ fördert aber auch die renal-

tubuläre Reabsorption von Ca. Unter normalen physiologischen Bedingungen hat $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ wahrscheinlich keine direkte Wirkung am Knochen, sondern bewirkt die Bereitstellung von Ca und P für den Mineralisierungsprozess durch eine gesteigerte intestinale Absorption (Erben, 2000; Ballock und O’Keefe, 2003) (Abb. 5). Neuere in vitro Studien von Boyan et al. (2002) zeigen, dass in der Epiphysenfuge unterschiedliche Metaboliten von Vitamin D massgebend sind. Während $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ primär die Zellen der Wachstumszone beeinflusst, werden die Zellen der Ruhezonen vor allem von $24,25(\text{OH})_2\text{VitD}$, einem Metaboliten mit deutlich geringerer biologischer Wirksamkeit, reguliert. Untersuchungen von Dean et al. (2001) mit Vitamin D-defizienten Ratten haben gezeigt, dass die Verabreichung von $24,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ vor allem die Zellen der Ruhe- und Proliferationszone beeinflusst, indem eine erhöhte Zellorganisation mit vermehrter Chondrozytensäulenbildung festgestellt werden konnte.

Die genaue physiologische Rolle der lokalen Aktivität der verschiedenen Vitamin D-Metaboliten in der Epiphysenfuge bleibt indessen unklar (Nilsson et al., 2005).

3.2.2.2. Parathormon

PTH wird in der Parathyreoidea, auch Nebenschilddrüse oder Epithelkörperchen genannt, gebildet und besteht bei Rind und Schwein aus 64, beim Geflügel aus 88 Aminosäuren. Die Sequenzen der Aminosäuren sind bei Rind, Schwein und Pferd relativ ähnlich. Für die biologische Wirkung ist nur ein Teil des Hormons, die Aminosäuren 1-34, erforderlich. Die Halbwertszeit von PTH im Blut beträgt nur wenige Minuten. Rezeptoren für PTH finden sich einerseits in der Niere auf den Epithelzellen der Nierentubuli, andererseits im Knochen auf Osteoblasten und endostalen Knochenbelegzellen. Sämtliche Wirkungen von PTH haben eine Erhöhung des Blutcalciumspiegels zur Folge. An der Niere führt PTH zu einer gesteigerten Rückresorption von Ca und zu einer Hemmung der Rückresorption von P. Des Weiteren stimuliert PTH die renale Synthese von $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$. Dies führt in der Folge zur Neubildung von Calciumbindungsproteinen in den Darmzellen und somit zur vermehrten Calciumrückresorption. Die Wirkung von PTH auf den Knochen besteht in einer Mobilisierung von Ca. Dies wird durch eine Zunahme des Calciumausstroms über ruhende Knochenoberflächen (Erben, 2000) sowie durch eine Stimulation des osteoklastären Knochenabbaus erreicht (Bushinsky und Monk, 1998; Penzlin, 2005). PTH erhöht die Osteoklastenaktivität innert Minuten und steigert innert Stunden bis Tagen die Rekrutierung und Fusionierung von Präosteoklasten zu reifen Osteoklasten (Erben, 2000).

3.2.2.3. Calcitonin

Das Peptidhormon Calcitonin wird bei Säugetieren in den parafollikulären C-Zellen der Thyreoidea gebildet. Der entscheidende Stimulus für die Ausschüttung von Calcitonin ins Blut besteht in einem Anstieg des ionisierten Blutcalciumspiegels (Erben, 2000). Auch gastrointestinale Hormone wie Gastrin sind in der Lage, die Calcitoninfreisetzung zu stimulieren (Görges, 2005). In der Folge wird die Resorption von Knochen gehemmt, wobei dieser Effekt durch spezifische Calcitonin-Rezeptoren auf Osteoklasten erzeugt wird. Ausserdem wirkt Calcitonin hypocalcämisch über eine Hemmung des von endostalen Knochenbelegzellen und Osteocyten kontrollierten Calciumausstroms aus dem Knochen und über eine vermehrte Kurzzeitspeicherung von Ca und P im Knochen. In den Nierentubuli bewirkt Calcitonin eine Hemmung der Calcium- und Phosphatrückresorption (Erben, 2000). Bei wachsenden Säugetieren, welche eine hohe Knochenumbaurate aufweisen, bewirkt Calcitonin eine Erniedrigung des Blutcalciumspiegels. Dieser Effekt tritt mit zunehmendem Alter der Tiere immer weniger deutlich auf. Bei gesunden Individuen bewirken auch sehr hohe Dosen von Calcitonin nur einen minimalen Effekt auf den Serumcalciumspiegel, da der Prozess der Knochenresorption bei Erwachsenen sehr langsam verläuft. Trotzdem wird Calcitonin in der Osteoporose-Therapie mit gutem Erfolg verwendet. Dies könnte daran liegen, dass die betroffenen Frauen nicht gesund sind und eine gesteigerte Knochenresorption aufweisen. Bei Frauen, die nach der Menopause an Osteoporose leiden, bewirkt Calcitonin, per Injektion oder per Nasenspray (Dosierung 200 I.E./d) verabreicht, ein vermindertes Frakturrisiko (Pfeilschifter, 2001; Findlay und Sexton, 2004). Dies lässt sich damit erklären, dass Calcitonin als Gegenspieler zum Parathormon wirkt und damit die Osteoklastenaktivität bremst. Somit ist ein vermehrter Calciumeinbau im Knochen möglich, was die Stabilität steigert. Eine willkommene Zusatzwirkung von Calcitonin ist seine analgetische Wirkung (Pfeilschifter, 2001). Die physiologische Rolle von Calcitonin musste sowohl beim Menschen (Görges, 2005) als auch allgemein bei Tieren bis vor wenigen Jahren als noch nicht befriedigend geklärt bezeichnet werden (Erben, 2000). Neuere Untersuchungen mit knock-out-Mäusen, denen das Gen für die Polypeptide Calcitonin und " α -Calcitonin gene-related peptide" fehlte, lassen vermuten, dass Calcitonin ein potenter Regulator sowohl bezüglich Knochenauf- als auch -abbau ist (Huebner et al., 2008).

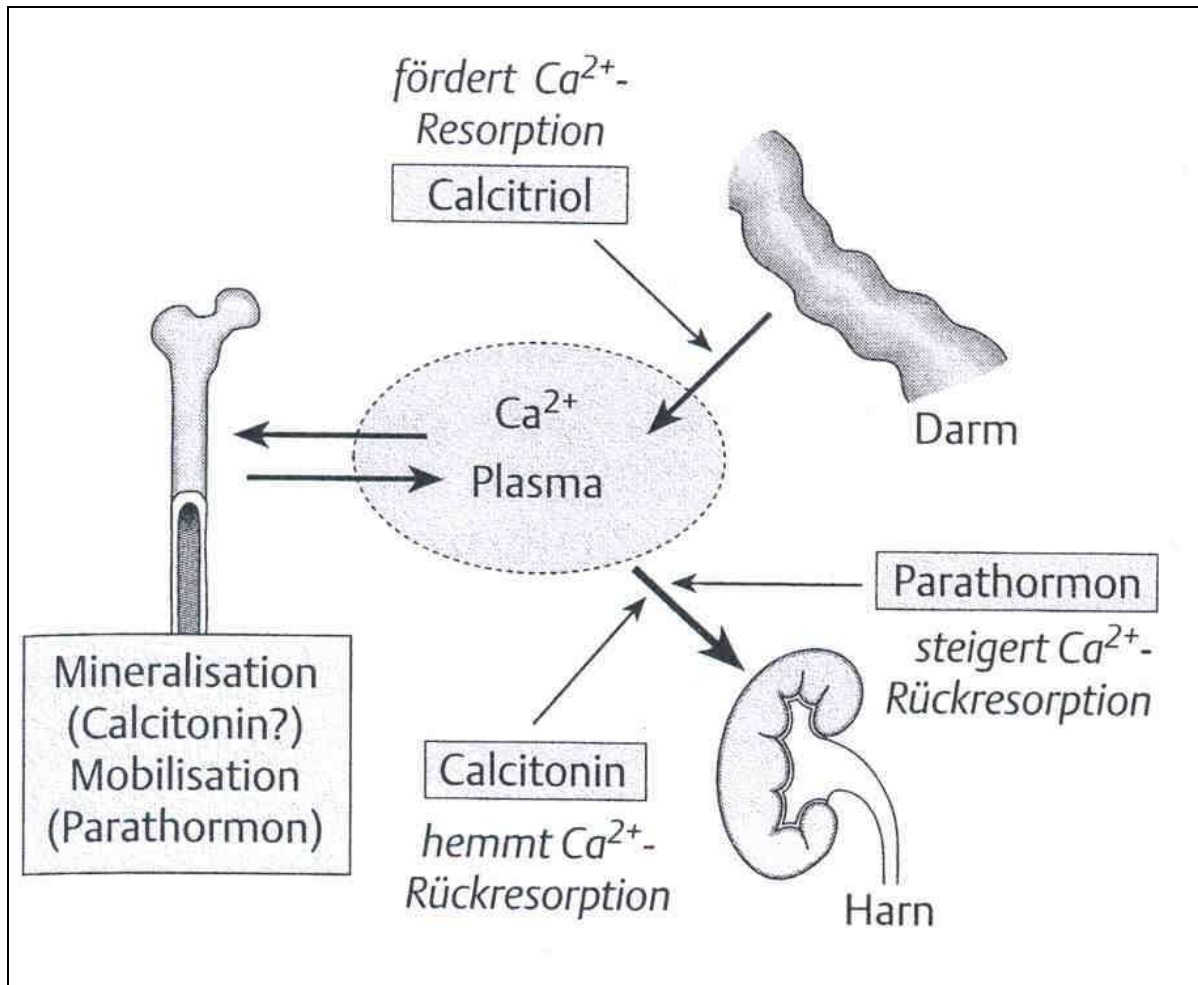


Abb. 5: Darstellung der an der Calcium-Homöostase beteiligten Hormone. (nach Erben, 2000)

3.3. Achsenfehlstellungen bei Fohlen

3.3.1. Ursache und Vorkommen von Achsenfehlstellungen

Achsenfehlstellungen bei Fohlen können grundsätzlich in kongenitale Fehlstellungen, welche in der perinatalen Zeit entstehen, und in entwicklungsbedingte Fehlstellungen, welche sich während der Wachstumsphase entwickeln, eingeteilt werden (Auer, 2004) (Abb. 6).

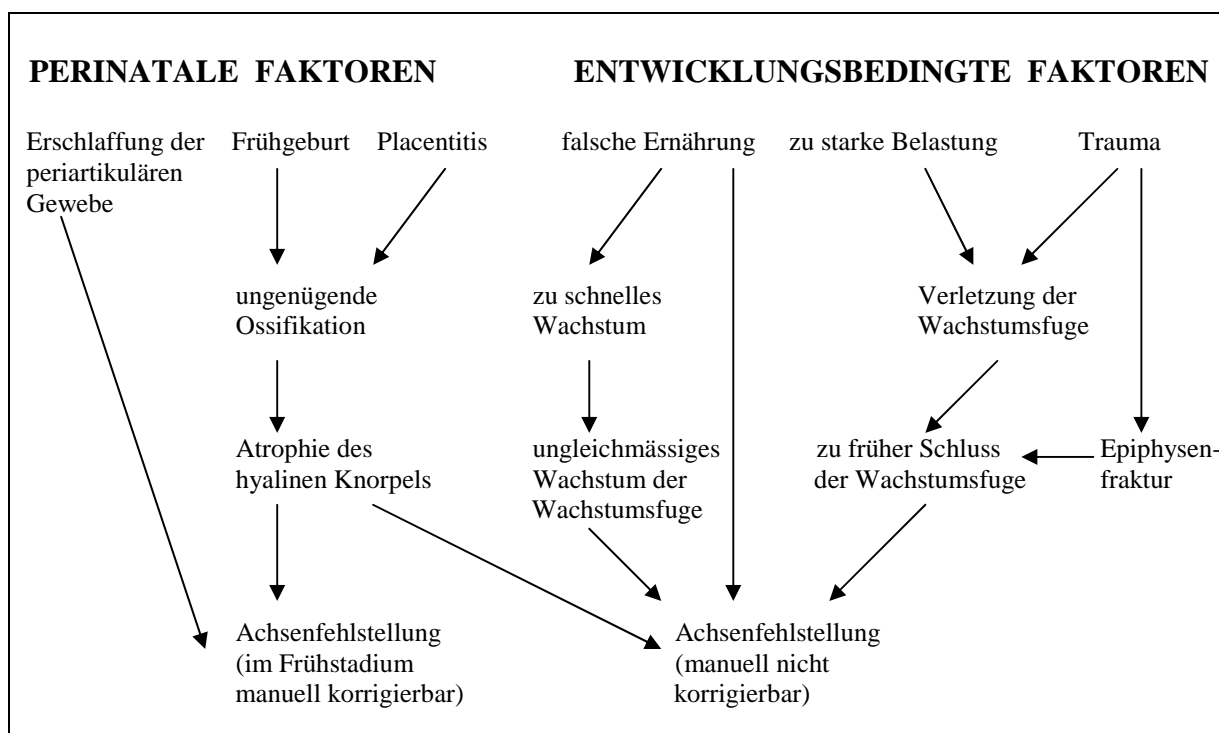


Abb. 6: Übersichtsdarstellung der Faktoren, welche Achsenfehlstellungen induzieren. (nach Auer, 2004)

Kongenitale Fehlstellungen werden weiter unterteilt in Fehlstellungen, welche durch ungenügende Ossifikation entstehen und Fehlstellungen, welche auf Erschlaffung des periartikulären Gewebes beruhen. In frühen Stadien können Fohlen mit solchen Fehlstellungen durch manuellen Druck temporär korrigiert werden, was diagnostisch zur Abgrenzung von entwicklungsbedingten Fehlstellungen verwendet werden kann. Im späteren Verlauf, wenn die Ossifikation fortschreitet und manueller Druck wirkungslos ist, ist die röntgenologische Untersuchung die einzige Methode, mit welcher eine exakte Diagnose möglich ist.

Entwicklungsbedingte Fehlstellungen haben ihre Ursache in unausgewogener Ernährung, zu starker Belastung, Trauma oder disproportionalem Wachstum der Epiphysenfugen (Auer, 2004).

Ernährungsbedingte Störungen der knöchernen Strukturen wurden vor allem im Zusammenhang mit Osteochondrose untersucht.

Hintz und Schryver (1976) zeigte, dass ein Kupfer-Defizit, hervorgerufen durch das Beweiden kupferarmer Böden, eine normale Osteoblastenaktivität verhindert. In der Folge entstehen ein dünnerer Knochenkortex, unterentwickelte Knochentrabekel und erweiterte Wachstumsfugen. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al. (1999) untersuchten Plasma, Milz, Leber und Niere von Fohlen mit Osteochondrose und kamen zum Schluss, dass die Kupferkonzentration tiefer war als bei Fohlen ohne Osteochondrose. Ott und Asquith (1989) empfehlen, beim Beweiden kupferarmer Böden ein Mineralfutter zuzufüttern. Diese Massnahme kann eine günstige Beeinflussung der Knochenmineralisierung bewirken. Neuere Untersuchungen von Roughead und Lukaski (2003) beschreiben bei Ratten mit reduzierter Kupferaufnahme eine deutlich verminderte Vernetzung kollagener und nichtkollagener Knochenmatrix, aber auch eine deutliche Reduktion von zirkulierendem IGF-I. Ernährungsbedingte Störungen der knöchernen Strukturen wurden vor allem im Zusammenhang mit Osteochondrose untersucht. Glade und Belling (1984) vermuten einen Zusammenhang zwischen erhöhtem Energie- und Proteingehalt der Ration und der Entstehung von Osteochondrose, weisen aber auch auf den möglichen Einfluss von endokrinen Faktoren wie beispielsweise Hypothyroidismus hin. Savage et al. (1993) verglichen das Auftreten von Osteochondrose bei Fohlen, die entweder mit Rationen mit erhöhtem Energiegehalt oder mit Rationen mit erhöhtem Proteingehalt gefüttert wurden. Dabei stellte sich heraus, dass in der Gruppe der Fohlen, welche mit energiereichen Rationen gefüttert worden waren, signifikant häufiger Osteochondrose auftrat als bei den proteinreich gefütterten Fohlen. Kronfeld et al. (1990) glauben, dass gut verdauliche Kohlehydrate als ätiologische Faktoren bei der Entstehung von Osteochondrose eine Rolle spielen. Hoffman et al. (1999) versuchten bei Absetzern herauszufinden, welchen Einfluss kohlehydrat- respektive fettreiche Rationen auf den Knochenmineralgehalt ausüben. Die Autoren stellten fest, dass der Knochenmineralgehalt bei Absetzern und Jährlingen, welche mit kohlehydratreicher Ration gefüttert worden waren, vermindert war. Der Knochenmineralgehalt stieg mit zunehmendem Alter an. Während des Winters blieben die Gehalte auf einem Niveau konstant und stiegen im Verlauf des Frühjahrs wieder an. Wie stark die verschiedenen Einflüsse wie Futter, Alter und Jahreszeit gewichtet werden müssen, kann bis heute nicht mit Gewissheit beantwortet werden. Ott et al. (2005) fütterten abgesetzten Fohlen Rationen mit erhöhtem Stärkeanteil, fanden aber keine erhöhte Neigung zu Osteochondrose. Schryver et al. (1987) fanden bei Fohlen nach Fütterung von Rationen mit erhöhtem Proteinanteil keine erhöhte Osteochondrose-Neigung.

Zu starke Belastung, aber auch Trauma, zum Beispiel verursacht durch einen Schlag eines anderen Pferdes, können zu Mikrofrakturen in der Proliferationszone der Epiphysenfuge führen. Dies beeinträchtigt die weitere Proliferation und Maturation der Chondrozyten und führt damit zu einem vorzeitigen Schluss der Fuge (Auer, 1999). Häufig bleibt die Ursache von Achsenfehlstellungen jedoch unklar (Caron, 1988).

Der bezüglich Achsenfehlstellungen bei Fohlen am häufigsten betroffene Knochen ist der Carpus. Hier wird meistens eine Valgus-Fehlstellung diagnostiziert (Auer und Martens, 1982; Bertone et al., 1985) (Abb. 7a). Auch bei Tarsus, Metatarsus und Metacarpus wird oft eine Fehlstellung beobachtet (Caron, 1988), wobei je nach Fall eine Varus- oder eine Valgusstellung vorliegen kann. All diese Fehlstellungen können entweder ein- oder beidseitig an einer oder auch an mehreren Stellen vorliegen.

Bei der Adspektion des Fohlens sind die meisten Fehlstellungen leicht erkennbar (Caron, 1988). Für die Beurteilung von Achsenfehlstellungen sind Röntgenaufnahmen erforderlich, einerseits, um den Grad der Achsenabweichung festzustellen, andererseits, um den Ossifikationsgrad, also den Grad der Mineralisierung, vor allem von Carpus und Tarsus, beurteilen zu können (Auer, 2004) (Abb. 7b).



Abb. 7a: Fohlen mit Valgus-Fehlstellung im Carpus.
(aus: Auer, 2004)



Abb. 7b: Achsenabweichung im
Röntgenbild. (aus: Auer, 2004)

3.3.2. Therapiemethoden

Achsenfehlstellungen bei Fohlen können konservativ oder chirurgisch therapiert werden. Konservativ werden Stallruhe, korrektive Hufbearbeitung (Greet, 2000) und das Anbringen von externer Unterstützung wie Schienen (Jansson und Ducharme, 2005) oder Fixationsverbände (Caron, 1988) genannt. Chirurgische Techniken werden unterteilt in Wachstumsbeschleunigung und Wachstumsverzögerung (Auer, 2004).

3.3.2.1. Konservative Therapie

Milde Formen von Achsenfehlstellungen, welche aufgrund einer Erschlaffung des periartikulären Gewebes entstanden sind, können in vielen Fällen allein durch einige Wochen Stallruhe konservativ erfolgreich behandelt werden (Bramlage und Auer, 2006). Die Bewegungseinschränkung ermöglicht den Gliedmassen, in gerader Stellung und ohne zu starke Belastung zu ossifizieren. Kurze Spaziergänge an der Seite der Mutterstute stimulieren die Muskeln und stärken die betroffenen bindegewebigen Strukturen (Auer, 1999). Jansson und Ducharme (2005) hingegen empfehlen keine Stallruhe mit der Begründung, dass Bewegung wichtig sei für normale Muskelentwicklung. Sie plädieren für eine Haltung von Stute und Fohlen in einem kleinen Paddock.

Unterstützend kann mittels korrektiver Hufbearbeitung eine verminderte Achsenabweichung erreicht werden. Bei Valgus-Fehlstellungen wird die äussere Hufwand kürzer geraspelt, die innere dagegen belassen (Greet, 2000). Dies bewirkt, dass die innere Hufwand den Boden beim Auffussen zuerst berührt. Während anschliessend die gesamte Huffläche das Gewicht aufnimmt, kommt es zu einer erwünschten medialen Rotation (Auer, 1999).

Das Anbringen von externer Unterstützung in Form von Schienen und Fixationsverbänden während 2-3 Wochen ist bei manuell korrigierbaren Fehlstellungen induziert, damit die Knochen normal ossifizieren können. Wichtig ist, dass der Schienenverband mindestens alle 3-4 Tage gewechselt wird, damit Druckstellen vermieden werden können (Auer, 2004).

3.3.2.2. Chirurgische Therapie

Wachstumsbeschleunigung und Wachstumsverzögerung werden einerseits bei Fohlen durchgeführt, bei welchen das Wachstum zwischen medial und lateral der Gliedmasse ungleich ist, andererseits aber auch bei Fohlen, welche eine persistierende Fehlstellung nach ungenügender Ossifikation aufweisen (Auer, 2004).

Wachstumsbeschleunigend wirkt "hemicircumferential transection of the periosteum and periosteal stripping" (HCTP and PS). Die Methode wurde von Auer und Martens (1982)

beschrieben und stellt die bei Achsenfehlstellungen am häufigsten angewandte chirurgische Methode dar (Mitten et al., 1995). Auch in der Humanmedizin kommt "PS" zur Anwendung, beispielsweise bei Kindern mit vermindertem Knochenwachstum nach Poliomyelitis (Jenkins et al., 1975; Wilde und Baker, 1987). Diese Periostdurchtrennung und Lösung des Periosts vom darunter liegenden Knochen wird auf der konkaven Seite des verkürzten Knochens durchgeführt. Nach dem Lösen des Periosts weichen die Periostlappen einige Millimeter auseinander (Abb. 8). Innerhalb von etwa zwei Monaten überbrückt neues Periost diesen Spalt. Ab dieser Zeit ist keine wachstumsbeschleunigende Wirkung mehr vorhanden (Auer, 2004). Von entscheidender Bedeutung ist das Alter der Fohlen zum Operationszeitpunkt. Auer (1999) empfiehlt "HCTP and PS" nur bei Fohlen, die jünger als drei Monate sind, da zu einem späteren Zeitpunkt nur noch ein minimales Längenwachstum der Knochen erwartet werden kann. Dutton et al. (1999) schlagen für die Operation von Tarsus valgus ein Alter von weniger als 60 Tagen vor, Greet (2000) operiert Carpus varus spätestens im Alter von vier Wochen.

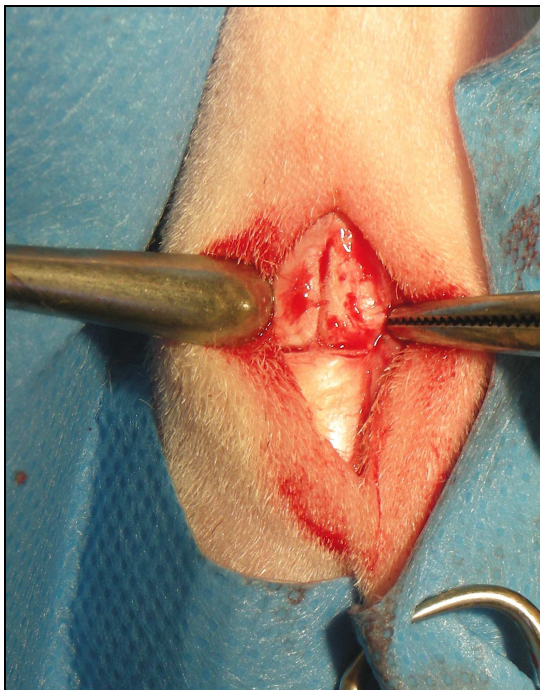


Abb. 8a



Abb. 8b

Abb. 8: Periostdurchtrennung (a) und Ablösen des Periosts bewirken das Auseinanderweichen (b) der Periostlappen. (Fotos: von Rechenberg, 2007)

Wachstumsverzögernd wirkt "transphyseal bridging". Bei dieser Methode wird mittels Schrauben, Drähten, Platten und Pins auf der schneller gewachsenen Knochenseite die Epiphysenfuge überbrückt. Die verwendete Technik hängt dabei stark vom operierenden Chirurgen ab (Hunt, 2000).

Bei Fohlen mit sehr starken Achsenfehlstellungen oder bei älteren Fohlen, bei welchen möglichst schnell eine Korrektur erreicht werden soll, können Wachstumsbeschleunigung und Wachstumsverzögerung kombiniert und beide Operationen an derselben Gliedmasse durchgeführt werden (Auer und von Rechenberg, 2006).

Der Hauptunterschied zwischen der wachstumsbeschleunigenden und der wachstumshemmenden Technik besteht darin, dass bei "transphyseal bridging" eine zweite Operation zum richtigen Zeitpunkt zwecks Entfernung der Implantate vorgenommen muss, während bei "HCTP and PS" kein weiterer chirurgischer Einsatz nötig ist (Jansson und Ducharme, 2005).

3.3.2.3. Diskussion der Therapiemethoden

In den letzten Jahren wurde die Wirksamkeit der Methode "HCPS and PS" von mehreren Autoren in Frage gestellt. Slone et al. (2000) glaubten, dass Achsenfehlstellungen bei Fohlen auch ohne chirurgische Intervention korrigiert werden können. Laut ihren Erfahrungen konnten fast alle Achsenabweichungen allein mit eingeschränktem Bewegungsmanagement erfolgreich therapiert werden. Read et al. (2001) stellte die Hypothese auf, wonach Stallhaltung und korrektive Hufbearbeitung allein genauso effektiv wirkten wie "HCTP and PS". In der diesbezüglichen Studie wurde bei Fohlen experimentell mittels "transphyseal bridging" eine Achsenabweichung am distalen Radius erzeugt. Nach dem Entfernen der Implantate wurde am zufällig ausgewählten Bein "HCTP and PS" durchgeführt, während das kontralaterale Bein nicht operiert wurde und somit als Kontrolle diente. Acht Wochen nach "HCTP and PS" hatte sich die Achsenabweichung beider Beine massiv vermindert, und es war kein signifikanter Unterschied zwischen dem operierten und dem als Kontrolle dienenden Bein ersichtlich. Read et al. (2002) geben allerdings zu, dass die Verwendung von Fohlen mit experimentell induzierten Fehlstellungen problematisch ist, wenn es darum geht, die Effizienz einer chirurgischen Methode bei der Behandlung von Fohlen mit natürlich entstandenen Achsenabweichungen zu beurteilen.

3.4. Nachweismethoden für den Knochenmetabolismus

3.4.1. Knochenmarker

Die Aktivität des Knochenstoffwechsels kann histologisch, histomorphometrisch, durch Analyse von Knochenbiopsien (Steiger et al., 1999) oder durch Konzentrationsmessung biochemischer Marker in Serum, Plasma oder Urin bestimmt werden (Lepage et al., 1990). Bei Kindern konnten Trivedi et al. (1989, 1991) zeigen, dass biochemische Marker sehr sensitive Indikatoren bezüglich der Knochengesundheit wachsender Individuen darstellen. Price et al. (2001) weisen darauf hin, dass es von grossem Wert wäre, wenn prädiktive biochemische Marker gefunden würden, welche es ermöglichen würden, junge Pferde mit erhöhtem Risiko einer abnormalen Skelettentwicklung zu identifizieren. Seibel (2005) betont, dass Veränderungen von Markern des Knochenstoffwechsels nicht krankheitsspezifisch sind, dennoch aber Abweichungen im Metabolismus der gesamten Skelettentwicklung reflektieren. Grundsätzlich können bezüglich Knochenstoffwechsel zwei gegensätzliche metabolische Aktivitäten unterschieden werden: Die Resorption von altem Knochengewebe durch osteoklastische Zellen und die Apposition von neu gebildetem Knochen durch Osteoblasten. Folglich wird auch bei den Knochenmarkern unterschieden zwischen Markern der Knochenresorption und Markern der Knochenbildung (Liesegang, 2000) (Abb. 9).

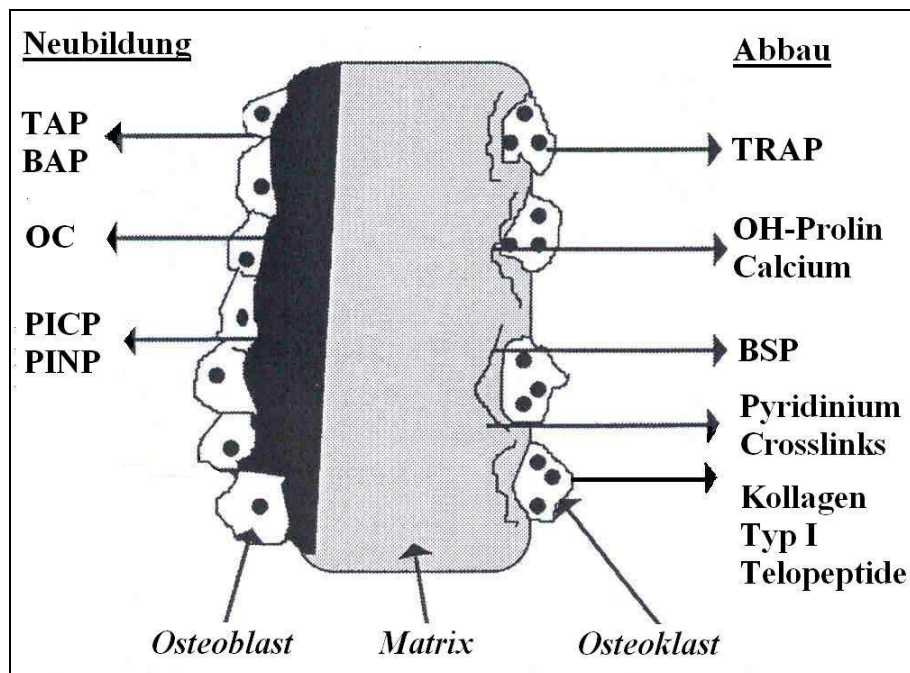


Abb. 9: Schematische Darstellung der Knochenstoffwechselparameter. Enzymatischer Aufbau marker: Totale alkalische Phosphatase (TAP), knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP). Matrixassoziierte Aufbau marker: Osteocalcin (OC) und Kollagenpropeptide (PICP, PINP). Spezifisches Osteoklastenenzym: Tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAP). Degradationsprodukte der organischen Knochenmatrix: Hydroxy-(OH)-Prolin und Kalzium (im Urin), Pyridinium-Crosslinks und quervernetzte Kollagen Typ I Telo peptide. Bone Sialoprotein (BSP). (nach Seibel, 2005)

3.4.1.1. Marker des Knochenaufbaus

Tab. 1: Marker des Knochenaufbaus bei Mensch, Pferd und Schaf. (nach Woitge et al., 2001)

Marker	Herkunfts-gewebe	Material	Bestimmungs-methode
Totale alkalische Phosphatase (TAP)	Knochen Leber Darm Niere (Plazenta)	Serum	Kolorimetrie
Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP)	Knochen	Serum	Kolorimetrie Elektrophorese Präzipitation Immunoassay
Osteocalcin (OC)	Knochen Thrombozyten	Serum	Immunoassay
Carboxyterminales Propeptid des Typ I Prokollagens (PICP)	Knochen (Bindegewebe, Haut)	Serum	Immunoassay
Aminoternales Propeptid des Typ I Prokollagens (PINP)	Knochen (Bindegewebe, Haut)	Serum	Immunoassay

3.4.1.1.1. Osteocalcin (OC)

Osteocalcin, auch als bone gla-protein bezeichnet, ist ein kleines (5800 Dalton), nicht-kollagenes Protein, welches von Osteoblasten während der Phase der Mineralisation der extrazellulären Matrix unter der Kontrolle von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ gebildet wird (Schönau und Rauch, 1997). Während der grösste Teil des neugebildeten Proteins in die extrazelluläre Matrix gelangt, wo es etwa 15% der nicht-kollagenen Proteine ausmacht, wird ein kleiner Teil ins Blut abgegeben und kann dort mittels Immunoassay detektiert werden (Seibel, 2005). Allerdings wird OC sehr rasch in verschiedene Bruchstücke gespalten. Die Spaltstellen liegen dabei häufig zwischen den Aminosäuren 19 und 20 sowie 43 und 44. Dies hat zur Folge, dass in jeder Blutprobe sowohl intakte Peptide als auch grössenvariable Fragmente vorliegen, die mittels verschiedener Immunoassays bestimmt werden können. Die Messergebnisse der verschiedenen Assays sind jedoch nicht vergleichbar (Delmas, 1990). Obwohl OC seit 20 Jahren bekannt ist, sind die präzise Funktion (Woitge et al., 2001; Allen, 2003) sowie der Abbaumechanismus (Carstanjen et al., 2003) immer noch unklar.

Bei der Interpretation von OC-Werten im Serum von Pferden sollte das Alter unbedingt berücksichtigt werden, da in den ersten 30 Lebensmonaten der OC-Level drastisch absinkt (Lepage et al., 1990). Vervuert et al. (2007) stellten bei Fohlen in den ersten 200 Lebenstagen ebenfalls fallende OC-Werte fest, konnten aber auch noch Unterschiede feststellen zwischen Fohlen, deren Geburtstermin vor dem 1. April lag und Fohlen, welche erst nach dem 1. April geboren wurden. So zeigten die spät geborenen Fohlen im Alter von bis zu 50 Tagen höhere OC-Werte, im Alter von 200 Tagen jedoch deutlich tiefere OC-Konzentrationen als die früh im Jahr geborenen Fohlen. Das Geschlecht beeinflusst die OC-Werte nicht (Lepage et al., 1992), der Pferde-Typ dagegen schon. So konnten in einer Studie von Lepage et al. (1997, 1998) bei warmblütigen Pferden deutlich höhere OC-Werte gemessen werden als bei Kaltblütern. De Behr et al. (2003) hingegen massen im Gegensatz dazu bei Ardenner Kaltblütern deutlich höhere Konzentrationen als bei Belgischen Warmblütern. Price et al. (2001) stellten jahreszeitliche Schwankungen bezüglich des OC-Levels im Serum fest. Zwischen Oktober und Januar stiegen die Werte um 40% an, stagnierten dann bis April und fielen danach wieder ab. Dass OC bei Pferden einer circadianen Rhythmik unterliegt, zeigten Lepage et al. (1991), Black et al. (1999) und Jackson et al. (2003 a). Während des Tages waren die OC-Levels relativ konstant, in der Nacht schwankten sie hingegen beträchtlich. Höchstwerte waren in den frühen Morgenstunden zu beobachten. Es wird deshalb empfohlen, Blutproben tagsüber und immer zu denselben Zeitpunkten zu entnehmen, um vergleichbare Werte zu erhalten. Hope et al. (1993) weisen darauf hin, dass die Lichtverhältnisse einen massgebenden Einfluss auf die OC-Levels haben können. Versuche mit Pferden, die konstanter Beleuchtung ausgesetzt waren, ergaben keine circadianen Schwankungen bezüglich der Osteocalcin-Konzentrationen. Hoekstra et al. (1999) vermuten, dass auch die Haltungsbedingungen von Pferden einen Einfluss auf die OC-Konzentrationen im Serum haben. Eine Studie mit Jährlingen und Zweijährigen ergab, dass im Stall gehaltene Tiere deutlich tiefere OC-Werte aufwiesen als diejenigen Tiere, welche ausschliesslich auf der Weide gehalten wurden. Diese Tatsache korreliert mit einer Studie aus der Humanmedizin, wonach aktive Fussballspieler höhere OC-Werte aufweisen als gleichaltrige, nicht sportliche Männer (Karlsson et al., 2003).

Auch bei Lämmern sinken die OC-Werte im Serum mit zunehmendem Alter (Corlett et al., 1990; Scott et al., 1993). Tiefe OC-Levels konnten auch bei Lämmern beobachtet werden, welche mit einer Ration mit erniedrigtem Phosphor-Gehalt gefüttert wurden (Scott et al., 1994). Liesegang et al. (2003) zeigten, dass OC bei Lämmern einem circadianen Rhythmus mit Höchstwerten in den Nachtstunden unterliegt. Hüttenmoser (2007) untersuchte den

Knochenstoffwechsel von wachsenden Jungschafen, von denen eine Versuchsgruppe auf der Alp (2000 müM.) und eine Kontrollgruppe im Schweizerischen Mittelland (400 müM.) gehalten wurde. Die OC-Konzentrationen im Serum waren bei den gealpten Tieren, welche sich mehr bewegten, tendentiell höher als diejenigen der im Mittelland lebenden.

Seibel et al. (2001) weisen darauf hin, dass die in verschiedenen Labors ermittelten Werte von Knochenmarkern im Serum auch bei Verwendung derselben Assays und Methoden beträchtliche Differenzen aufweisen können.

3.4.1.1.2. Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)

Alkalische Phosphatasen (AP) umfassen eine Gruppe von Isoenzymen mit einem Molekulargewicht von etwa 100 kD, welche die Hydrolyse von Phosphateestern katalysieren (Schönau und Rauch, 1997). Sie kommen ubiquitär im Körper vor und werden von verschiedenen Geweben produziert (Tab. 1). 95% der Gesamtaktivität im Serum stammen aus Hepatozyten und Osteoblasten (Moss, 1992). Die genaue Funktion der AP ist unklar, eine Funktion in der Osteoidbildung und in der Mineralisierung wird jedoch beschrieben (Ballock und O'Keefe, 2003). Bei Pferden kann eine Aktivität von bAP auf der Oberfläche von Chondrozytenmembranen lokalisiert werden (Henson et al., 1995). Deshalb wird die Messung des knochenspezifischen Isoenzyms der AP als hochspezifischer Parameter der osteoblastischen Aktivität und damit der Knochenformation erachtet (Van Straalen et al., 1991).

Lepage et al. (1991) beobachteten bei der bAP von Pferden eine circadiane Rhythmik, welche aber keine Parallelen zu den OC-Werten darstellte. Bei Fohlen konnte innerhalb der ersten drei Lebenswochen ein markanter Rückgang der bAP im Serum festgestellt werden (Hank et al. 1993).

Während bei Schaflämmern bezüglich bAP keine signifikanten tageszeitlichen Schwankungen auftreten, kommt es bei Ziegenlämmern nachts zu einem Abfall der bAP-Konzentration im Serum (Liesegang et al., 2003). Saisonale Schwankungen bei Lämmern sind gering; erhöhte bAP-Werte im Sommer widerspiegeln einen allgemein erhöhten Knochenstoffwechsel während des Knochenwachstums (Arens et al., 2007). Hüttenmoser (2007) stellte fest, dass die bAP-Konzentrationen im Serum gealpter Jungschafe signifikant höher waren als die Werte der nicht gealpten Kontrolltiere.

3.4.1.2. Marker des Knochenabbaus

Tab. 2: Marker des Knochenabbaus bei Mensch, Pferd und Schaf. (modifiziert nach Seibel, 2006)

Marker	Herkunftsgewebe	Material	Bestimmungsmethode
Hydroxyprolin (HYP)	Knorpel Knochen Bindegewebe Haut	Urin	HPLC Kolorimetrie
Pyridinolin (PYD)	Knochen Knorpel Haut Weichteile Dentin	Serum Urin	HPLC Immunoassay
Deoxypyridinolin (DPD)	Knochen Dentin	Serum Urin	HPLC Immunoassay
Carboxyterminales Typ-I-Kollagen-Telopeptid (CTX-I)	Knochen	Serum Urin	Immunoassay
Quervernetztes carboxyterminales Typ-I-Kollagen-Telopeptid (ICTP)	Knochen	Serum Urin	Immunoassay
Tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAP)	Knochen Blutzellen	Serum Plasma	Immunoassay Kolorimetrie

3.4.1.2.1. Quervernetztes carboxyterminales Telopeptid des Typ-I-Kollagens (ICTP)

ICTP wird beim durch Osteoklasten regulierten Abbau von Typ-I-Kollagen aus den Knochen in den Blutkreislauf freigesetzt und über die Niere abgebaut (Christenson, 1997). Typ I Kollagen für den Aufbau der Knochenmatrix wird von Osteoblasten gebildet (Felsenberg, 2001). Es besteht aus parallel und sequentiell aneinander gelagerten Untereinheiten aus Tropokollagen (Junqueira et al., 2002) (Abb. 10).

Beim Knochenabbau entstehen je nach Ort der Spaltung des Tropokollagens auch Abbauprodukte der linearen Kettenenden (Abb. 11). Laut Rosenquist et al. (1998) entsteht ICTP an den C-terminalen Kettenenden und ist nebst CTX-I, NTX und weiteren ein spezifischer Abbaumarker, weil andere Gewebe wie die Haut, die ebenfalls Typ-I-Kollagen enthält, nicht aktiv durch Osteoklasten metabolisiert werden können (Christenson, 1997).

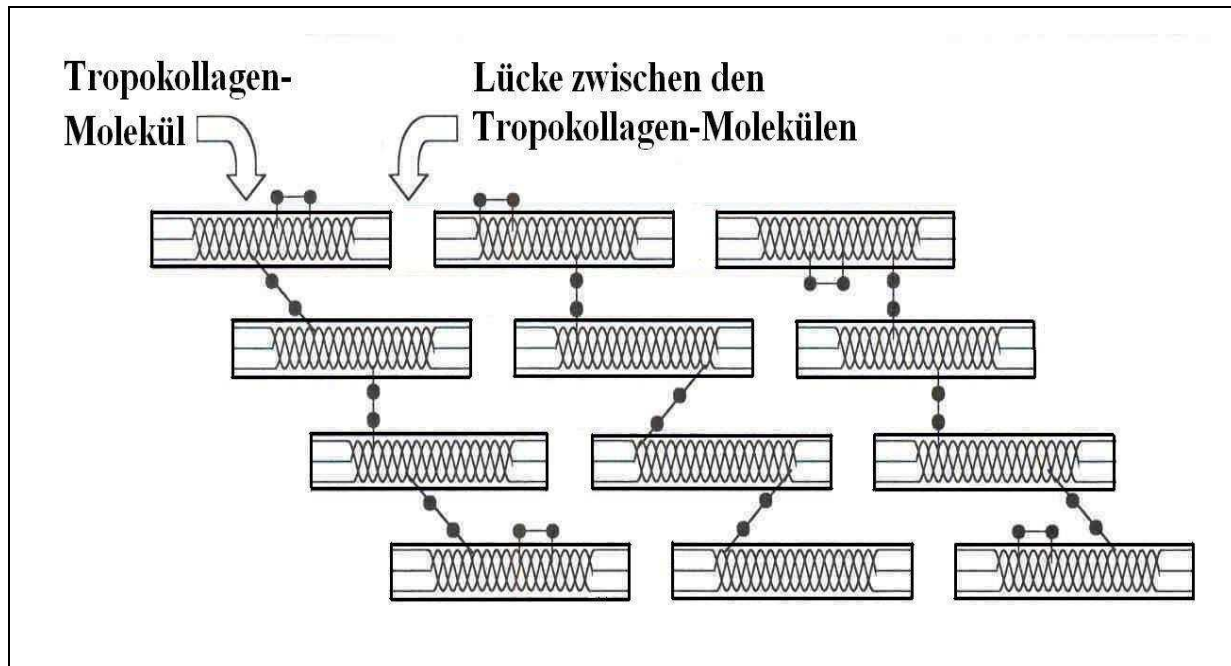


Abb. 10: Schematischer Aufbau des Kollagens durch parallele und sequentielle Anlagerung von Tropokollagenmolekülen. Crosslinks innerhalb und zwischen den Tropokollagen-Einheiten sind durch zwei miteinander verbundene gefüllte Kreise symbolisiert. (nach Stryer, 1990)

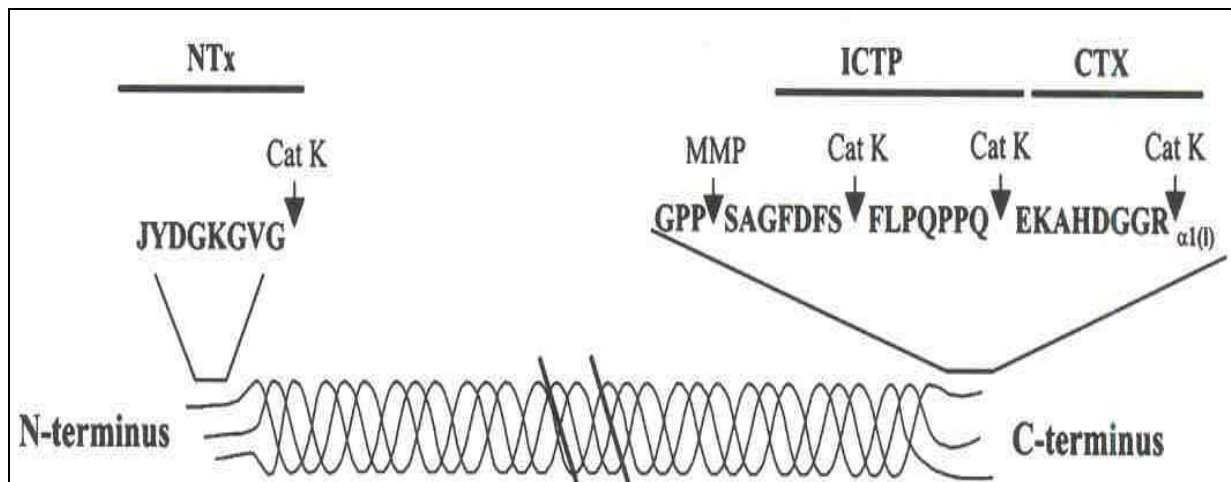


Abb. 11: Abbauprodukte der linearen Kettenenden des Tropokollagens. Quervernetzte Telo-peptide: NTx (N-Telo-peptid); ICTP (Quervernetztes carboxyterminales Telo-peptid des Typ-I-Kollagens; CTX-I (Carboxyterminales Telo-peptid-Fragment von Typ-I-Kollagen (CTX-I); Cat K: Cathepsin K; MMP: Metalloproteinase. (aus Leeming et al., 2006)

In der Humanmedizin wird ICTP häufig verwendet im Zusammenhang mit Krankheiten, welche durch Osteolyse charakterisiert sind (Risteli und Risteli, 1993), wie beispielsweise rheumatoide Arthritis, Osteoporose oder Tumorerkrankungen (Meier und Seibel, 2007). Ausserdem können mithilfe von Knochenabbaumarkern in Kombination mit anderen Risikofaktoren Voraussagen über das Frakturrisiko von Knochen gemacht werden (Seibel, 2006).

Lepage et al. (1998) untersuchten ICTP bei warm- und kaltblütigen Pferden und fanden bei Kaltblütern signifikant höhere Serum-Konzentrationen als bei Warmblütern. Das Geschlecht der Tiere spielte keine Rolle, wohl aber das Alter, was auch Price et al. (1995) feststellen konnten. Jackson et al. (2003 b) hingegen fanden bei 20-30 Monate alten Vollblütern signifikant höhere ICTP-Konzentrationen bei Hengsten im Vergleich zu Stuten. Saisonale Schwankungen mit signifikant höheren Serum-Konzentrationen in den Monaten Oktober bis Februar stellten Price et al. (2001) bei Vollblütern fest.

Bei Schafen konnten bezüglich ICTP keine zirkadianen Schwankungen beobachtet werden (Liesegang et al., 2003). Die Auswirkungen einer Trächtigkeit auf den Knochenstoffwechsel zeigten Liesegang und Risteli (2005). Bei erstmalig trächtigen Schafen stiegen die mittleren ICTP-Konzentrationen in der ersten Woche nach der Geburt an, sanken dann in der zweiten Woche wieder auf die frühen Trächtigkeitswerte. Bei Schafen, die bereits zum zweiten Mal trächtig waren, stiegen die ICTP-Konzentrationen bereits im letzten Trächtigkeitsmonat an, blieben dann aber wie bei erstträchtigen Tieren in den ersten Tagen nach der Geburt erhöht und fielen in der zweiten Woche auf das Niveau der frühen Trächtigkeit ab (Liesegang et al., 2007).

3.4.1.2.2. Carboxyterminales Telopeptid-Fragment von Typ-I-Kollagen (CTX-I)

CTX-I, auch Crosslaps genannt, entsteht wie ICTP beim Abbau von Kollagen Typ I (Abb. 11), repräsentiert aber ein anderes Epitop des C-Endes des Typ-I-Kollagens (Eriksen et al., 2004). Auch CTX-I gilt als knochenspezifisch, weil alle anderen Gewebe, die ebenfalls Kollagen Typ I enthalten, nicht von Osteoklasten abgebaut werden können (Christenson 1997).

In der Humanmedizin wird CTX-I als sensibler Marker für die Wirkung von Medikamenten bei Patientinnen mit Osteoporose verwendet (Rosenquist et al., 1998; Grünwald et al., 2006). Auch für die Beurteilung des Frakturrisikos bei Frauen nach der Menopause ist CTX-I gut geeignet (Garnero et al., 2001a). Für den Nachweis von erhöhter Osteoklasten-Aktivität nach oraler Calciumverabreichung ist CTX-I im Gegensatz zu ICTP sehr aussagekräftig

(Guillemant et al., 2003). Bei der Serum-Analyse müssen sowohl die Tageszeit als auch der Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme berücksichtigt werden, da diese beiden Parameter einen Einfluss auf die Schwankung der CTX-I-Konzentration haben können (Garnero, 2000). Billingham et al. (2003) untersuchten CTX-I-Levels von Fohlen in den ersten fünf Lebensmonaten. Dabei stellten sie fest, dass sowohl im Stall gehaltene als auch trainierte Fohlen höhere Werte aufwiesen als Fohlen, die auf der Weide gehalten wurden. Begründet wurden diese Ergebnisse mit der Vermutung, dass auf der Weide gehaltene Fohlen weniger Kollagen Typ I abbauen als physisch unter- und überforderte Fohlen. Im Gegensatz zu Knochenaufbaumarkern wie Osteocalcin, dessen Konzentration im Serum mit zunehmendem Alter der Fohlen absinkt, steigen die Konzentrationen von Knochenaufbaumarkern wie CTX-I an (Billinghurst et al., 2004). Dieselben Autoren dokumentieren bei Fohlen im Alter von fünf Monaten einen Zusammenhang zwischen CTX-I-Konzentration und Ausmass von Osteochondrose. Saisonale Schwankungen mit signifikant höheren Serum-Konzentrationen in den Wintermonaten stellten Pastoret et al. (2007) in einer Studie mit Kaltblütern fest. Das Geschlecht hingegen spielte keine Rolle. CTX-I ist bei Pferden laut Carstam et al. (2004) keinen circadianen Schwankungen unterworfen.

Bei Lämmern wurde CTX-I bisher wenig verwendet. Liesegang et al. (2003) stellten circadiane Schwankungen mit Maxima in den frühen Morgenstunden fest. Bei trächtigen Schafen stiegen die CTX-I-Konzentrationen in den letzten Wochen vor der Geburt und in den ersten Tagen nach der Geburt an und sanken dann langsam ab, bis sie nach sechs Wochen das Niveau der frühen Trächtigkeit erreichten (Liesegang et al., 2006).

3.4.2. Knorpelmarker

Die Reservezone der Epiphysenfuge besteht aus ruhenden Chondrozyten, welche Kollagen Typ II produzieren (Provot und Schipani, 2005). Dieses stellt neben den Proteoglycanen den Hauptbestandteil des Knorpels dar und bildet die fibrilläre Grundstruktur der extrazellulären Matrix (Skoumal et al., 2007). Für die Synthese von Kollagen-Typ-II wird im Cytoplasma der Chondrozyten zuerst Typ-II-Prokollagen gebildet. Das Entfernen des N- und des C-Ende mittels einer spezifischen Protease führt dann zur Bildung einer Tripelhelix aus drei α -Ketten (Billinghurst et al., 1997), welche durch Hydroxypyridinium-Querbrücken netzartig miteinander verbunden sind (Stryer, 1990). Der Abbau von Kollagen Typ II erfolgt durch proteolytische Enzyme wie Z.B. diesogenannten Matrix-Metallo-Proteinasen (MMP), Gelatinasen und Stromelysine. Die MMPs werden unter anderem durch TNF-alpha und

Interleukine stimuliert (Haberhauer et al., 2003). An den Spaltstellen entstehen Neoepitope wie C2C, C1,2C oder CTX-II (Billinghurst et al., 1997; Poole, 2003). (Abb. 12)

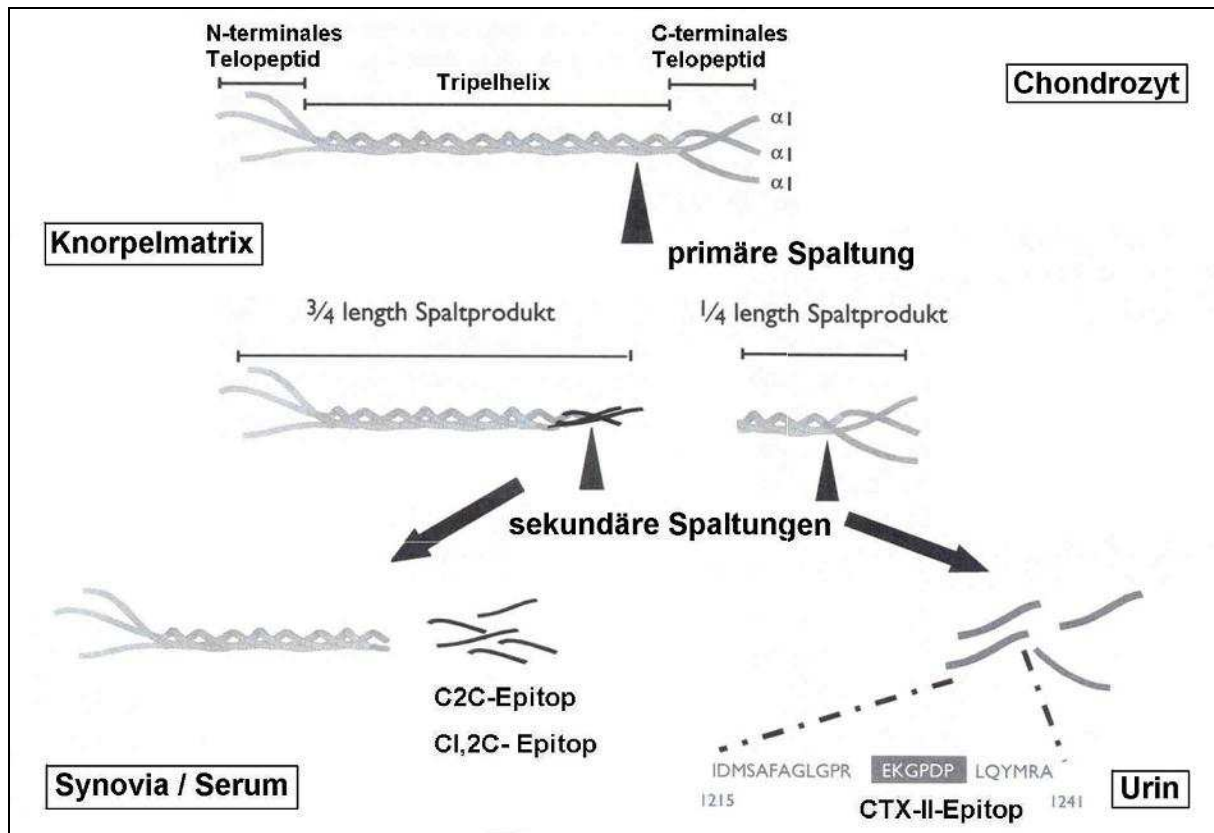


Abb. 12: Knorpelabbau und Freisetzung von Neoepitopen. C2C: Col2-3/4CLong-Epitop (Collagenase-generated cleavage epitope of collagen type 2); C1,2C: Col2-3/4CShort-Epitop; CTX-II: Carboxyterminales Telozeptid-Fragment des Typ-II-Kollagens. (Schema: OSTEOmedical Group, 2008)

Kollagen-Typ-II-Marker werden vor allem im Zusammenhang mit Klinik und Forschung auf dem Gebiet der Osteoarthritis verwendet (Ameye et al., 2007; Henrotin et al., 2007).

Bei Pferden wurden Knorpelmarker in jüngerer Zeit vor allem im Zusammenhang mit intraartikulären Injektionen von Entzündungshemmern untersucht. Cortisoninjektionen können den Gelenkknorpel im Karpalgelenk verändern. Dies zeigten Céleste et al. (2005). Sowohl die Konzentrationen von Knorpelaufbau- als auch Knorpelabbaumarkern waren in der Gelenkflüssigkeit von mit Corticosteroiden behandelten Tieren signifikant höher, verglichen mit der Gelenkflüssigkeit unbehandelter Kontrolltiere. Interessanterweise fanden sich nach der Cortisoninjektion nicht nur im behandelten Karpalgelenk veränderte Knorpelmarker-Werte, sondern auch im kontralateralen, nicht behandelten Karpalgelenk. Dies lässt die Vermutung zu, dass intraartikulär verabreichte Corticosteroide auch eine systemische Wirkung induzieren. Fradette et al. (2007) untersuchten Veränderungen bei Knorpelmarkern

nach oraler Verabreichung von Phenylbutazon, einem nichtsteroidalen Entzündungshemmer, fanden aber sowohl bei den Aufbau- als auch bei den Abbaumarkern keine Unterschiede zwischen den Serien behandelter respektive unbehandelter Tiere. Billingham et al. (2003) zeigten anhand von zwei Knorpelmarkern, dass übermässiges Training bei Fohlen in den ersten Lebensmonaten einen negativen Einfluss auf den Kollagenstoffwechsel ausübt. De Grauw et al. (2006) benützten Knorpelmarker, um in einer Osteochondrose-Studie Veränderungen des Knorpels zu untersuchen. Es wurden allerdings weder bei Knorpelaufbau- noch bei Knorpelabbaumarkern signifikante Unterschiede zwischen gesunden Pferden und an OCD erkrankten Pferden festgestellt.

Über die Verwendung von Knorpelmarkern bei Schafen findet sich wenig Literatur. Lu et al. (2006) untersuchten Knorpelmarker in der Synovia von Schafen, deren Kniegelenkknorpel experimentell beschädigt worden war. Eine Woche nach dem Eingriff waren die Abbaumarker im Vergleich zu den Werten unbehandelter Tiere signifikant erhöht, fielen dann aber im Verlaufe der Zeit wieder auf das ursprüngliche Niveau ab.

3.4.2.1. Aufbaumarker: Prokollagen II C-Propeptid (CPII)

Die Zerstörung des Knorpels bei Osteoarthritis hat eine Phase der Knorpelreparatur und eine sekundäre Synovitis zur Folge. Auf die Chondrozytenproliferation folgt eine vermehrte Bildung von Typ-II-Kollagen, welches als Prokollagen synthetisiert und sezerniert wird. Die Spaltung von Prokollagen hat die Freisetzung von N- und C-terminalen Propeptiden zur Folge, welche mittels Immunoassays detektiert werden können. Am häufigsten wird heutzutage CPII verwendet, das C-terminale Propeptid des Typ-II-Kollagens (Hotta et al., 2005). Der CPII-Gehalt korreliert direkt mit der Synthese des Typ-II-Kollagens und kann beim Mensch in Serum, Synovia und Knorpelextrakten gemessen werden. Kong et al. (2006) stellten circadiane Schwankungen fest, wie sie auch bei einigen Knochenmarkern beschrieben wurden, und empfahlen, die Untersuchungen immer zur selben Tageszeit durchzuführen.

3.4.2.2. Abbaumarker: Carboxyterminales Telozeptid-Fragment des Typ-II-Kollagens (CTX-II)

Wenn Knorpelmatrix durch eine Erkrankung wie Osteoarthritis abgebaut wird, entstehen Proteinfragmente, welche in die Synovia diffundieren. Diese Fragmente umfassen Spaltprodukte der Tripelhelix des Typ-II-Kollagens und das nicht aus Kollagen bestehende Matrix-Protein COMP (Haberhauer et al., 2003). Aussagekräftig sind heutzutage vor allem Kollagen-II-Abbaumarker wie "Collagenase-generated cleavage epitope of collagen type 2"

(C2C) (Conrozier et al., 2007) und "C-terminal telopeptide of collagen type II " (CTX -II) (Chevalier und Conrozier, 2005). C2C misst das Neoepitop, das durch die Spaltung von knorpelspezifischem Typ-II-Kollagen durch Kollagenasen entsteht (Wu et al., 2002).

3.4.3. Radiologische Techniken

Radiologische Techniken zur nichtinvasiven Untersuchung des Knochenstoffwechsels wurden vor allem in Zusammenhang mit Osteoporose und dem damit verbundenen erhöhten Frakturrisiko entwickelt (Grampp et al., 1999). Sie basieren auf dem Prinzip der Schwächung eines Röntgenstrahls entlang seiner Wegstrecke von der Strahlenquelle zum Detektorsystem. Verschiedene Materialien wie zum Beispiel Weichteilgewebe oder Knochen können Röntgenstrahlen energieabhängig unterschiedlich schwächen (Felsenberg und Gowin, 1999). Bei Knochen ist vor allem der Calciumgehalt für das Ausmass der Absorption verantwortlich (Jergas und Schmid, 1999). Wenn Knochen unterschiedlicher Strahlungsenergie ausgesetzt wird, resultiert daraus ein grosser Unterschied im Schwächungsprofil, Weichteilgewebe hingegen weist nur einen geringen Unterschied im Schwächungsprofil auf. Aus der Differenz der Schwächungsprofile kann also auf die Materialzusammensetzung rückgeschlossen werden (Felsenberg und Gowin, 1999). Für die Messung der Knochendichte (Bone Mineral Density; BMD) stehen heute verschiedene radiologische Methoden zur Verfügung, allen voran "Dual X-Ray Absorptiometry" (DXA) und "Quantitative Computed Tomography" (QCT) (Damilakis et al., 2007). Um die trabekuläre Architektur, welche einen wichtigen Parameter für die Stabilität des Knochens darstellt (Ammann und Rizzoli, 2003), beurteilen zu können, werden Techniken wie "High Resolution CT", "Micro CT" (μ CT) und "Magnet Resonance Imaging" (MRI) eingesetzt. In den letzten Jahren wurde für diesen Zweck auch die Entwicklung von "Quantitativ Ultrasound" (QUS) vorangetrieben (Damilakis et al., 2007).

3.4.3.1. Quantitative Computertomographie (QCT) und periphere quantitative Computertomographie (pQCT)

QCT basiert auf der Messung und Auswertung separater Schichtbilder. Je nach Gerät werden einzelne oder mehrere Schichten aufgenommen. Die gemessenen CT-Werte werden mithilfe eines Kalibrierphantoms in äquivalente Knochenmineraldichtewerte umgerechnet (Engelke, 2002). QCT ermöglicht somit die Erfassung der effektiven Knochendichte (mg/cm^3) von trabekulärem oder corticalem Knochen (Guglielmi und Lang, 2002). Vorteile im Vergleich mit DXA sind die exakte dreidimensionale Lokalisation des Messvolumens (Lee et al., 2007), die isolierte Erfassung dieses Volumens ohne Überlagerung des umgebenden Gewebes

(Engelke, 2002), die Separation trabekulären und kortikalen Knochens (Prevhal und Genet, 1999) sowie die kürzere Messdauer (Gasser, 1995). Als Nachteile nennen Wüster et al. (2001) höhere Strahlenbelastung, Artefaktbildung durch degenerative Veränderungen sowie hohe Anschaffungskosten. Günstiger bezüglich Anschaffung und Unterhalt sind pQCT-Geräte, welche für die Untersuchung distaler Knochen wie Radius und Tibia geeignet sind (Wüster et al., 2003; Damilakis et al., 2007). Eine Weiterentwicklung der QCT stellen dreidimensionale CT-Geräte (3D-QCT) dar, welche in der Lage sind, die exakten Messorte noch zuverlässiger zu definieren (Swennen et al., 2005).

pQCT wird in der Humanmedizin im Bereich Osteoporose häufig verwendet (Dambacher et al., 2001; Damilakis et al., 2007). Für die Beurteilung der Knochenstabilität beziehungsweise die Abschätzung des Frakturrisikos langer Röhrenknochen ist pQCT eine zuverlässige Methode (Siu et al., 2003). Auch für die Beurteilung des Prozesses der Frakturheilung kann pQCT eine wichtige Rolle spielen (Augat et al., 1997).

In der Veterinärmedizin wird pQCT vor allem bei Labortieren wie Ratten (Ferretti, 1995; Jämsä et al., 2000), Kaninchen (Tsiridis et al., 2007) und Mäusen (Silfverswärd et al., 2007), aber auch bei Geflügel (Reiter und Bessei, 1998; Rubin et al., 2007) und Affen angewendet, dies meist im Sinne von humaner präklinischer Forschung. In der Osteoporoseforschung werden vor allem Ratten verwendet, weil diese kosteneffektiv und leicht zu handhaben sind (Lill et al., 2002).

Bei Pferden war bis vor Kurzem eine Allgemeinanästhesie nötig, um eine für die Messung notwendige totale Immobilisation zu erreichen. Diese Tatsache ist verantwortlich dafür, dass bisher selten Knochendichtemessungen an equinen Knochen in vivo durchgeführt wurden (Moure et al., 2003). Neuere Geräte lassen jetzt aber Messungen am sedierten stehenden Pferd zu (Desbrosse et al., 2003), was die Akzeptanz dieser Methode wesentlich verbessert.

Liesegang und Risteli (2005) untersuchten mittels pQCT den Einfluss calciumreicher Futterrationen auf den Knochenstoffwechsel wachsender Lämmer und stellten fest, dass die BMD-Werte signifikant höher waren als bei Lämmern, die mit Rationen mit bedarfsgerechtem Calciumgehalt gefüttert worden waren. Arens et al. (2007) konnten bei Schafen während der Wintermonate signifikant tiefere BMD-Werte messen als im Frühling und im Sommer. Dass ovariectomierte Schafe tiefere BMD-Werte aufweisen, ist seit längerem bekannt (Chavassieux et al., 2001). Die tiefsten BMD-Werte stellten Lill et al. (2002) bei ovariectomierten Schafen fest, die zugleich mit Steroiden behandelt und mit einer Ration, die wenig Calcium und Vitamin D enthielt, gefüttert worden waren. Mit Glucocorticoiden behandelte ovariectomierte Schafe können als Modell für steroidinduzierte Osteoporose bei

Menschen dienen (Schorlemmer et al., 2003). Schorlemmer et al. (2005) konnten bei diesen Schafen zeigen, dass die Verabreichung von Glucocorticoiden einen verminderten Knochenaufbau sowohl bei trabekulärem als auch bei kortikalem Knochen bewirkt. Liesegang et al. (2006) untersuchten erstmals trächtige Schafe und stellten fest, dass die BMD-Werte zwischen dem vierten Trächtigkeitsmonat und der Geburt massiv absanken, dann aber innerhalb zweier Wochen post partum wieder auf die gleiche Höhe anstiegen und während der folgenden Laktation auf diesem Niveau bestehen blieben.

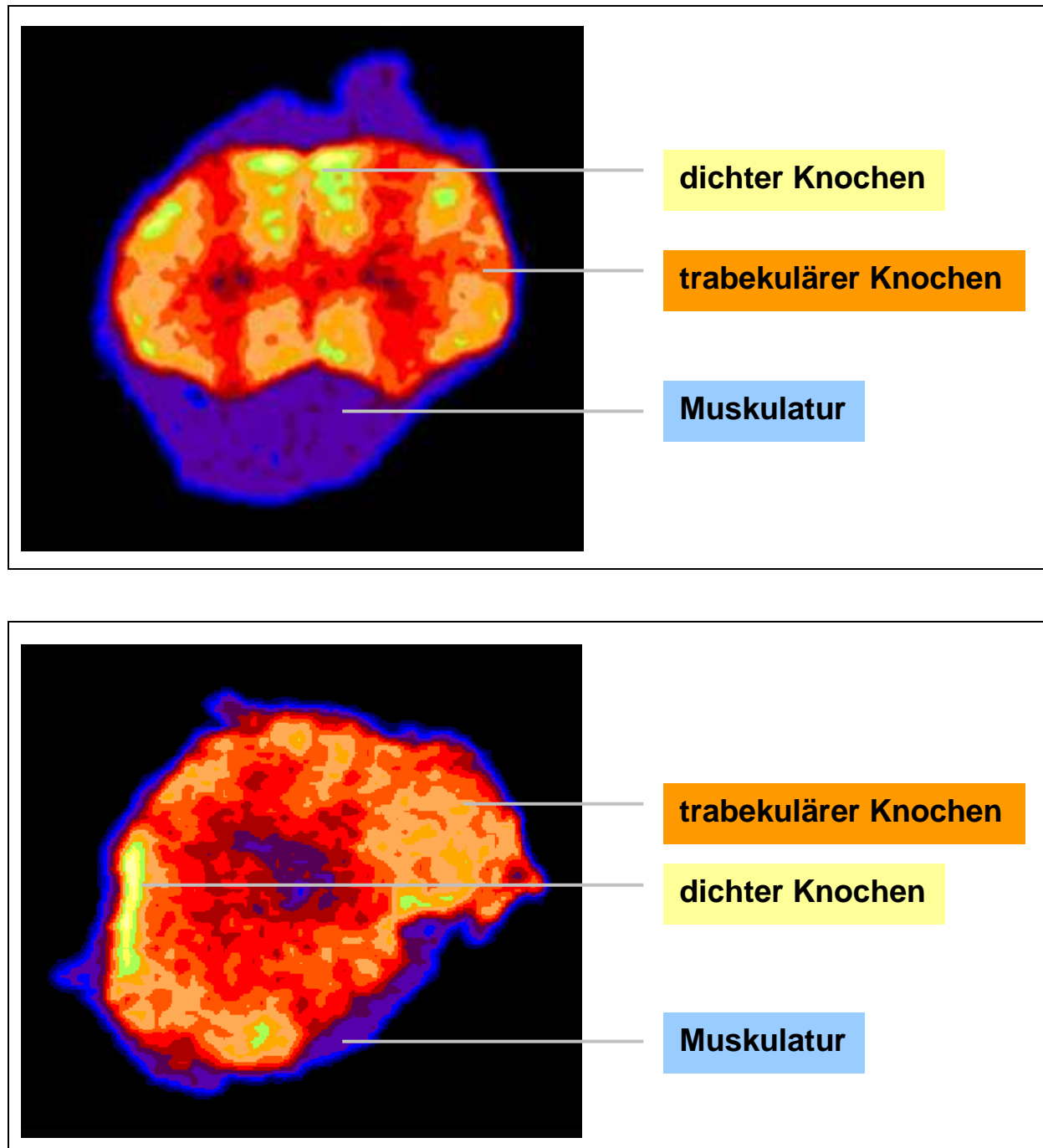


Abb. 13: pQCT der Epiphysenfugen von distalem rechten Metatarsus (oben) und distalem rechten Radius (unten). Weiss-Gelb: dichte Strukturen (dichter Knochen). Rot-orange: Zonen mit niedriger Knochendichte (trabekulärer Knochen). Blau: Weichteile (Muskulatur, Haut).

3.4.3.2. Andere nichtinvasive Verfahren

"Dual X-Ray Absorptiometry" (DXA)

Im Gegensatz zu den Schnittbildverfahren wie QCT wird beim DXA der Knochenmineralgehalt nicht pro Volumen bestimmt, sondern pro Fläche (g/cm^2) (Mazess et al., 1990; Damilakis et al., 2007). Das zu untersuchende Objekt wird mäander- oder fächerförmig abgerastert. Dabei fährt eine Strahlenquelle mit einem Detektorsystem über das zu untersuchende Gebiet hinweg und misst dabei die Schwächung einer definierten Strahlung. Durch den Einsatz von zwei unterschiedlichen Energiespektren ist es möglich, die Schwächung durch den Knochen zu berechnen (Felsenberg und Gowin, 1999).

DXA wird bei der Untersuchung des Frakturrisikos bei Osteoporose-Patienten häufig verwendet (Grampp, 2002; Ammann und Rizzoli, 2003; Lewiecki und Laster, 2006). Vorteile der Methode sind die kurze Messdauer sowie die relativ geringe Strahlenbelastung (Grier et al., 1996). Ob die Knochendichte an zentraler Lokalisation wie zum Beispiel Hüfte oder an einem peripheren Knochen durchgeführt wird, spielt eine untergeordnete Rolle (Blake et al., 2006).

"Micro Computed Tomography" (μ CT)

Der Hauptunterschied zwischen herkömmlichen CT-Geräten und μ CT-Scannern besteht in der Ortsauflösung der resultierenden Bilder. Mit modernen Ganzkörper-CT-Geräten kann eine Ortsauflösung von etwa 1 mm erzielt werden, während diese im μ CT-Bereich zwischen 5 und 50 μm liegt. Damit ist es möglich, die dreidimensionale Knochenstruktur von kleinen Proben oder auch von kleinen Versuchstieren wie Ratten und Mäuse zu untersuchen (Engelke et al., 1999). Seit einiger Zeit ist es auch möglich, mittels μ CT dreidimensionale Darstellungen der Spongiosa beim Menschen in vivo herzustellen (Dambacher et al., 2001).

"Quantitativer Ultraschall" (QUS)

Die dem quantitativen Ultraschall zugrunde liegenden Prinzipien beruhen entweder auf der Zeit oder auf der Abschwächung des Frequenzspektrums, die ein definierter Ultraschallimpuls bei der Passage durch den Knochen benötigt (Hans et al., 1997). Auch dieses Verfahren wird in der Osteoporosediagnostik, der Frakturrisikoabschätzung und der Verlaufskontrolle häufig verwendet (Glüer et al., 1999), oft in Kombination mit DXA (Njeh et al., 1997). Vorteile der Methode sind die fehlende Strahlenbelastung und die niedrigen Kosten der mobilen Geräte (Njeh et al., 1997; Muller et al., 2008).

"Magnet Resonance Imaging" (MRI)

Beim MRI werden Wasserstoffatome des Körpers in einem zeitlich konstanten Magnetfeld durch kurze Hochfrequenzsignale von aussen angeregt. Die dadurch absorbierte elektromagnetische Energie wird bei der Relaxation der Wasserstoffatome als Radiosignal wie ein Echo vom Körper wieder zurückgesendet, im MR-Gerät durch hochempfindliche Antennen empfangen, vom Computer ausgewertet und schliesslich zu einem Bild verarbeitet (Lampe et al., 2007). Die meisten Signale werden vom Wasserstoffkern empfangen. Knochen, der wenig Wasserstoffatome beinhaltet, ist daher grundsätzlich eher signalarm (Willenbrink und Struck, 1998). Bei Osteoporose-Patienten wird MRI heutzutage als Ergänzung zu routinemässigen DXA-Messungen verwendet (Link et al., 1999; Majumdar, 2008). MRI ermöglicht die dreidimensionale Darstellung der trabekulären Mikrostruktur von Knochen (Newitt et al., 2002). Die Entwicklung von Geräten, welche mit stärkeren Magnetfeldern (>3 tesla) arbeiten, wird zu vermehrter Verwendung von high-resolution MRI führen (Lespessailles et al., 2006).

4. Tiere, Material und Methoden

4.1. Versuchstiere

4.1.1. Lämmer

Als Versuchstiere wurden 20 Lämmer (Weisses Alpenschaf x ostfriesisches Milchschaaf) eingesetzt, davon 10 weibliche und 10 männliche Tiere. Diese wurden im Alter von 8 Wochen von ihren Müttern abgesetzt. Bei Versuchsbeginn im Alter von durchschnittlich 8 Wochen und 5 Tagen (\pm Standardfehler (STE) 0.3 Tage) wiesen die Tiere ein Anfangsgewicht von durchschnittlich 17.0 ± 0.7 kg auf und erreichten 22 Tage später ein Schlachtgewicht von durchschnittlich 19.5 ± 0.7 kg.

4.1.1.1. Gruppeneinteilung

Für die dreiwöchige Versuchsphase wurden die 20 Lämmer in zwei Gruppen zu je 10 Tieren eingeteilt. Die Lämmer der op-Gruppe (5 männliche, 5 weibliche Tiere) wurden mittels "periost stripping" operiert (siehe Kapitel 4.1.1.4.), die Lämmer der Kontrollgruppe (5 männliche, 5 weibliche Tiere) dienten als Kontrolltiere.

4.1.1.2. Haltung, Futter und Fütterung

Während der gesamten Versuchsdauer wurden die Lämmer in Gruppen von drei bis sechs Tieren in mit Stroh eingestreuten Boxen gehalten. Die Fütterung erfolgte bedarfsgerecht mit 400 g Emd und 100 g Kraftfutter (UFA 765, UFA AG, Herzogenbuchsee, Schweiz) pro Tier und Tag (Tab. 3). Viehsalzlecksteine (UFA AG, Herzogenbuchsee, Schweiz) und Wasser standen ad libitum zur Verfügung.

Tab. 3: Rohnährstoff- und Mineralstoffgehalt der verwendeten Futtermittel.
Trockensubstanz (TS) auf Originalsubstanz (OS) bezogen, restliche Parameter auf TS bezogen.

Probe	TS %	Roh- asche %	Roh- protein %	Roh- faser %	Roh- fett %	HCL unl. A. %	Ca %	Mg %	P %	ADF %	ADL %	NDF %
Emd	91.8	8.11	15.54	26.33	2.8	1.33	0.59	0.2	0.33	35.75	3.84	65.43
Kraft- futter	88	5.42	13.31	6.93	6.15	0.43	0.69	0.19	0.46	9.04	1.89	26.74

HCl unl. A. : Salzsäure-unlösliche Asche
ADF: Acid Detergent Fibre (Cellulose plus Lignin)
ADL: Acid Detergent Lignin (Lignin)
NDF: Neutral Detergent Fibre (Hemicellulosen, Pektine, Cellulose plus Lignin)

4.1.1.3. Versuchsanordnung

Im Alter von durchschnittlich 8 Wochen und 5 Tagen wurden die 10 Tiere der op-Gruppe mit "periost stripping" an 4 Lokalisationen einer Körperseite operiert.

Die Tiere der Kontrollgruppe wurden nicht operiert und nicht in Narkose gelegt. Ansonsten wurden sie jedoch prä- und postoperativ mit denselben Medikamenten (Dosis entsprechend Körpergewicht) wie die operierten Tiere versorgt (siehe 4.1.1.4.). Ausserdem wurden wie bei den operierten Tieren alle vier Gliedmassen geschoren.

Vor der Operation und dann in regelmässigen Abständen wurde allen Tieren eine Blutprobe entnommen sowie die Knochendichte an den oben erwähnten Stellen gemessen. 22 Tage nach der Operation wurden die Tiere geschlachtet und dabei Radius, Metacarpus, Tibia und Metatarsus entnommen. Der zeitliche Ablauf des Versuches ist in Tab. 4 dargestellt.

Tab. 4: Versuchsablauf

Tag -1	Tag 0	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
BE /KD		BE/KD	BE/KD	BE/KD	BE/KD	BE/KD	BE/KD
	Operation						Schlachtung

BE: Blutentnahme

KD: Knochendichtemessung

4.1.1.4. Operation

Die 10 Lämmer der op-Gruppe wurden mittels "Periost stripping" operiert. Am Tag vor der Operation wurden alle vier Extremitäten geschoren. Am Operationstag wurden die Tiere 3 Stunden gefastet, bevor sie mit 0,004 ml Medetomidin pro kg Körpergewicht (KGW) sediert wurden. Nach dem Anbringen des Jugularkatheters wurden die Lämmer mit 0,05 ml Clamoxyl® (Pfizer AG, Zürich, Schweiz) pro kg KGW, 0,04 ml Rimadyl® (Pfizer AG, Zürich, Schweiz) pro kg KGW und 0,03 ml Temgesic® (Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz) pro kg KGW prämediziert, ferner wurde ihnen 1,5 ml Tetanusserum verabreicht. Die Anästhesieeinleitung erfolgte mit 0,02 ml Ketamin/0,01 ml Climazolam pro kg KGW und Propofol nach Wirkung, anschliessend wurde intubiert und die Anästhesie mit Isofluran unterhalten.

Fünf Lämmer wurden an den rechten, fünf an den linken Extremitäten operiert. Das "Periost stripping" wurde pro Lamm an vier Lokalisationen (distalen Radius, distaler Metacarpus, distale Tibia und distaler Metatarsus) durchgeführt. Die entsprechenden Extremitäten wurden aseptisch vorbereitet, bevor im Operationsgebiet ein etwa drei bis vier Zentimeter langer vertikaler Hautschnitt unmittelbar proximal der Epiphyse erfolgte. Vor der Durchtrennung des Periosts wurde auf beiden Seiten der vertikalen Inzision das subkutane Gewebe vom Periost gelöst. Dann wurde das Periost mit einer Skalpellschneideklinge zuerst in horizontaler Schnittrichtung parallel zur Epiphysenfuge, dann in vertikalem Schnitt durchtrennt. Dies ergab eine "T"-Inzision, deren dreieckige Periostlappen vom darunterliegenden Knochen abgehoben und dann lose wieder daraufgelegt wurden. So entstand eine einige Millimeter breite Lücke im Periost. Anschliessend wurde das subkutane Gewebe fortlaufend, die Haut mit einer Intrakutannaht ebenfalls fortlaufend verschlossen und die entsprechende Extremität für zwei Tage mit einem Verband versehen. Nach der Operation wurden die Lämmer extubiert und der Venenkatheter entfernt, anschliessend konnten die Tiere wieder in ihre Box zurückgebracht werden. Die postoperative Analgesie erfolgte mit zweimaliger Gabe von 0,03 ml Temgesic® pro kg KGW. Rimadyl® und Clamoxyl® wurden während drei Tagen post OP in präoperativer Dosis verabreicht.

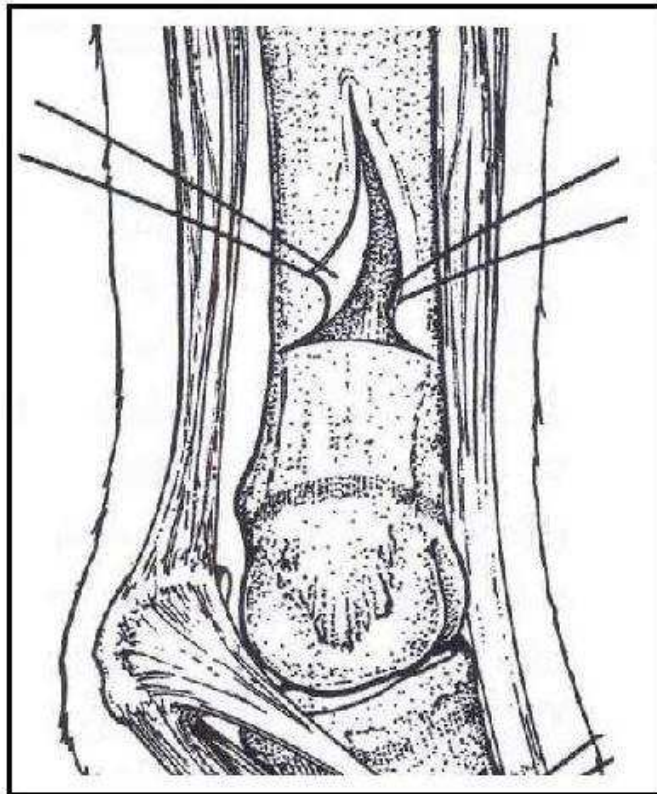


Abb. 14: Schematische Darstellung des "Periost stripping". (nach Auer et al., 1999)

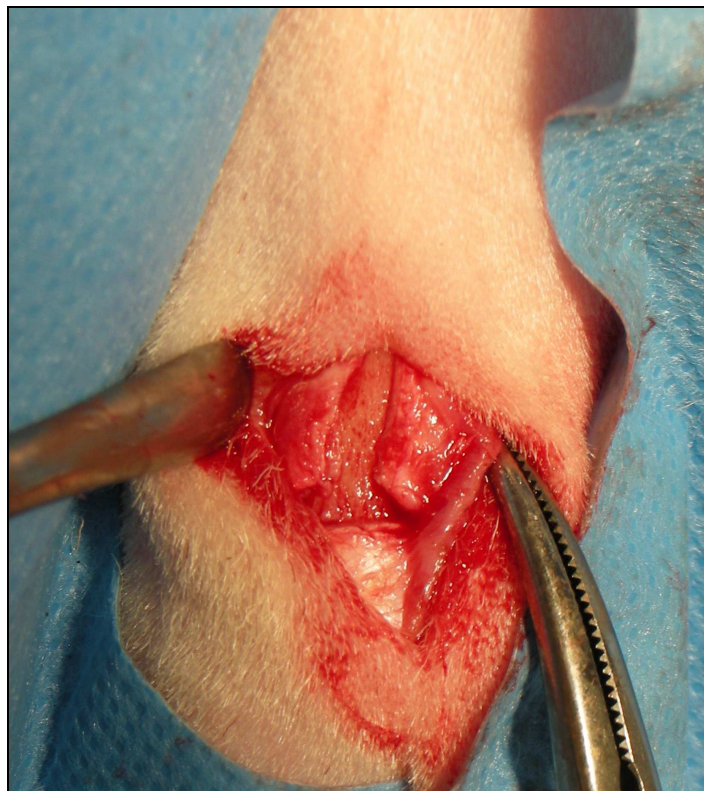


Abb. 15: "Periost stripping" am distalen Metacarpus eines Lammes. (Foto: von Rechenberg 2007)

4.1.2. Fohlen

Als Versuchstiere dienten fünf Fohlen mit Achsenfehlstellungen, welche in der Pferdeklinik des Tierspitals Zürich mittels "periost-stripping" operiert wurden. Ausserdem wurden fünf gesunde, gleichaltrige Fohlen als Kontrolltiere eingesetzt. Die Fohlen waren zu Versuchsbeginn durchschnittlich 3 Wochen (\pm STE 2.3 Tage) alt.

4.1.2.1. Gruppeneinteilung

Für die dreiwöchige Versuchsphase wurden die 10 Fohlen in zwei Gruppen zu je 5 Tieren eingeteilt. Die Fohlen der op-Gruppe (2 männliche, 3 weibliche Tiere) wurden mittels "periost stripping" operiert (siehe Kapitel 4.1.1.4.), die Fohlen der Kontrollgruppe (4 männliche Tiere, 1 weibliches Tier) dienten als Kontrolltiere.

4.1.2.2. Haltung, Futter und Fütterung

Während der gesamten Versuchsdauer wurden die Fohlen zusammen mit ihren Müttern gehalten. Den operierten Fohlen wurde Boxenruhe verordnet, während die Kontrollfohlen mehrere Stunden Weidegang pro Tag genossen. Da die Tiere aus unterschiedlichen Betrieben stammten, erfolgte die Fütterung von Stuten und Fohlen nicht einheitlich. Als Raufutter wurden Heu, Silage und Stroh verwendet, Kraftfutter verschiedener Produzenten wurde in unterschiedlichen Mengen verfüttert. Einige Fohlen erhielten ein spezielles Fohlenfutter, andere frassen in der Futterkrippe ihrer Mutter mit. Prinzipiell jedoch wurden alle Tiere mit für Pferde üblichen Rationen versorgt.

4.1.2.3. Versuchsanordnung

Die Tiere der op-Gruppe wurden im Alter von 2.5 bis 5 Wochen an einem oder mehreren Knochen mittels "periost stripping" operiert. Die Tiere der Kontrollgruppe wurden nicht operiert.

Vor der Operation und an den Tagen 10 und 21 nach der Operation wurde allen Fohlen eine Blutprobe entnommen.

4.2. Blutentnahmen und Laboranalysen

Die Blutentnahmen erfolgten bei den Lämmern jeweils morgens vor der Fütterung mittels Vacutainer-System (Vacuette® Greiner Bio-One Vacuette Schweiz GmbH, St. Gallen, Schweiz). Aus der Vena jugularis wurden jeweils 6 ml Blut entnommen, welche einige Minuten stehen gelassen und anschliessend 10 min bei 1580 g zentrifugiert wurden (Kühlzentrifuge Sigma 4K10, Sigma Laborzentrifugen AG, Osterode am Harz, Deutschland). Das Serum wurde sofort abpipettiert und auf drei Polyethylenröhrchen verteilt. Zwei der Röhrchen wurden bis zur Analyse bei -20°C eingefroren, das dritte bei -80°C.

Bei den Fohlen erfolgten die Blutentnahmen mit derselben Methode, aber zu unterschiedlichen Tageszeiten. Allerdings wurde darauf geachtet, dass die drei Blutproben eines Tieres immer zur selben Uhrzeit entnommen wurden.

Die Testkits für 1,25-(OH)₂D, OC, bAP, ICTP und CTX-I wurden ursprünglich für Menschen entwickelt, sind aber inzwischen für Schafe validiert (Liesegang et al., 2005).

Für die Fohlen sind die Testkits für OC (Price et al., 2001), BAP (Trumble et al., 2008), ICTP (Price et al., 1995), CTX-I (Carstanjen et al., 2004) und CPII (Frisbie et al., 1999; Laverty et al., 2000; Billingham et al., 2004) validiert.

4.2.1. Bestimmung des 1,25-(OH)₂ Vitamin D im Serum

Die Bestimmung des 1,25-(OH)₂VitD im Serum erfolgte mit einem Radioimmunoassay (RIA) (1,25-Dihydroxy Vitamin D RIA, Immunodiagnosics Systems Ltd, Boldon UK). In den entfetteten Proben wurde 1,25-(OH)₂VitD durch hochspezifische monoklonale Antikörper von potentiell kreuzreagierenden Metaboliten abgetrennt. Anschliessend wurde das Immunoextraktionsgel gewaschen und in Teströhrchen gegeben. Über Nacht wurde mit einem hochspezifischen Schaf-Antikörper gegen 1,25-(OH)₂VitD inkubiert, danach ¹²⁵I-1,25D zugegeben und für weitere 2 Stunden inkubiert. Die Trennung von gebundenem und freiem 1,25-(OH)₂VitD wurde durch kurze Inkubation mit einem Sac Gel® erreicht. Anschliessend wurden die Proben zentrifugiert und dekantiert. Die Radioaktivität der 1,25-(OH)₂VitD-Ausfällung wurde mit einem GAMMAmatic I (Kontron Münchenstein, Schweiz) gemessen.

4.2.2. Bestimmung der Knochen- und Knorpelmarker im Serum

4.2.2.1. Bestimmung des OC

Das Osteocalcin wurde mit einem ELISA-Testkit (Metra® Osteocalcin Enzyme Immunoassay Kit, Quidel Corporation, McKellar Court, California, USA) bestimmt, der einen monoklonalen Anti-OC-Antikörper verwendet. Dazu wurden 25 µl der Standardflüssigkeit, des

Kontrollserums und des Testserums vermischt und 125 µl Anti-OC-Antikörper beigelegt. Nach zweistündiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde drei Mal mit Waschlösung gewaschen und anschliessend 150 µl Enzymkonjugat zugegeben. Die Mischung wurde nach einstündiger Inkubation bei Raumtemperatur drei Mal mit Waschlösung gewaschen, dann wurden 150 µl der Substratlösung beigegeben. Nach halbstündiger Inkubation bei Raumtemperatur wurden 50 µl Stopplösung beigegeben und anschliessend die optische Dichte bei 405 nm mittels eines Photometers (Multiskan RC V.-0, ThermoLab Systems, Catalys AG, Wallisellen, Schweiz) abgelesen.

4.2.2.2. Bestimmung der bAP

Die bAP wurde mittels eines ELISA (Metra[®]bAP EIA Kit, Quidel Corporation, McKellar Court, California, USA) bestimmt, der einen monoklonalen Anti-bAP-Antikörper verwendet. Dazu wurden 125 µl des Puffers mit 20 µl der Standardflüssigkeit, des Kontrollserums und des Testserums vermischt. Die Mischung wurde während drei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde die Assay-Platte viermal gewaschen und anschliessend 150 µl Substratlösung dazugegeben. Die nachfolgende Inkubation bei Raumtemperatur dauerte 30 Minuten. Zum Schluss wurden 100 µl Stopplösung dazu pipettiert und die optische Dichte der Probe bei 405 nm mit einem Photometer (Multiskan RC V.-0, ThermoLab Systems, Catalys AG, Wallisellen, Schweiz) abgelesen.

4.2.2.3. Bestimmung des ICTP

Die Bestimmung des carboxyterminalen Telopeptid des Typ I Kollagens (ICTP) im Serum der Lämmer wurde mit einem RIA-Test nach Risteli (Departement of Medical Biochemistry, University of Oulu, Finnland) durchgeführt (Liesegang, 1997). Im Serum der Fohlen kam ein RIA-Test der Firma Orion Diagnostics, Oulunsalo, Finnland, zur Anwendung. Die Radioaktivität des Präzipitates mit dem gebundenen Tracer wurde mit einem Clinigamma 1272 Zähler (Wallace, Turku, Finland) bestimmt.

4.2.2.4. Bestimmung der CTX-I

Die Bestimmung der CTX-I wurde mit einem Serum CrossLaps[®] ELISA (Nordic Bioscience Diagnostics A/S, Herlev, Dänemark) durchgeführt. Mit zwei monoklonalen Antikörpern basiert der Serum CrossLaps[®] Ein-Stufen-ELISA auf dem Sandwichprinzip und erfasst bestimmte vernetzte, von Osteoklasten abgebaute C-terminale Peptide des Typ-I-Kollagens. Dazu wurde die Mikrotiterplatte mit 50 µl Standard, Kontrolle und Serum und 150 µl

Antikörperlösung bei Raumtemperatur unter Schütteln zwei Stunden inkubiert. Nach fünfmaligem Waschen wurden 100 µl Stopplösung dazu pipettiert. Die Reaktion wurde bei 450 nm Wellenlänge mit einem Photometer (Multiskan RC V.-0, ThermoLab Systems, Catalys AG, Wallisellen, Schweiz) innert zwei Stunden durchgeführt.

4.2.2.5. Bestimmung des CPII

Das Prokollagen II Propeptid wurde mit einem Procollagen II C-Propeptide ELISA (CP II ELISA, IBEX Technologies Inc., Montreal, Quebec, Canada) bestimmt. Der Test verwendet einen polyklonalen Antikörper gegen Typ-II-Kollagen. In einer Mischplatte wurde die Probe mit einem polyklonalen, CPII-spezifischen Kaninchen-Antikörper vermischt, 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und anschliessend auf eine mit bovinem CPII beschichtete Mikrotiterplatte transferiert. Diese wurde bei Raumtemperatur zwei Stunden inkubiert und dann sechs Mal gewaschen. Nach Zugabe einer Ziege-Anti-Kaninchen-Meerrettich-Peroxidase, welche an Anti-Kaninchen-Antikörper auf der Mikrotiterplatte bindet, wurde wieder 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und sechs Mal gewaschen. Das für die Farbgebung verantwortliche Tetramethylbenzidin wurde dazupipettiert, nach dreissigminütiger Inkubation eine Stopplösung zugegeben und anschliessend die optische Dichte der Probe bei 450 nm mit einem Photometer (Multiskan RC V.-0, ThermoLab Systems, Catalys AG, Wallisellen, Schweiz) bestimmt.

4.2.2.6. Bestimmung des CTX-II

Die Bestimmung des carboxyterminalen Telozeptid-Fragmentes des Typ-II-Kollagens (CTX-II) im Serum wurde mit einem Serum Pre-Clinical Cartilaps[®] ELISA (Nordic Bioscience Diagnostics A/S, Herlev, Dänemark) durchgeführt. Der Test, welcher mit zwei spezifisch monoklonalen Antikörpern arbeitet, ist in der Lage, quervernetzte Fragmente des Typ-II-Kollagens zu erkennen. In einer Mischplatte wurden die Standardlösung und die Serumproben vermischt und in Puffer gelöste CTX-II-Antikörper zugegeben. Nach dreissigminütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde das Antigen-Antikörper-Gemisch auf die Mikrotiterplatte transferiert und erneut für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Nach fünfmaligem Waschen wurde ein Peroxidase-konjugierter Antikörper zugegeben, 60 Minuten inkubiert und fünf Mal gewaschen. Auf die Zugabe von Tetramethylbenzidin erfolgte eine Inkubation von 15 Minuten im Dunkeln auf einem Schüttler, dann wurde eine Stopplösung zugegeben. Die Bestimmung der optischen Dichte der Probe erfolgte mit einem Photometer (Multiskan RC V.-0, ThermoLab Systems, Catalys AG, Wallisellen, Schweiz) bei 450nm.

4.3. Knochenparameter

4.3.1. Bestimmung von Knochendichte und -mineralstoffgehalt

Die Knochendichtemessungen wurden mit Hilfe eines peripheren quantitativen Computertomographs (pQCT) (Stratec XCT 960 A bone scanner, Stratec Medizinaltechnik GmbH, Pforzheim, Deutschland) durchgeführt (siehe Einleitung 3.4.3.1.). Dazu wurden die Tiere ohne Sedation in Seitenlage auf einen höhenverstellbaren Tisch gelegt und die zu messende Extremität im Gerät fixiert. Gemessen wurde die Knochendichte im Bereich der distalen Epiphysenfuge von Radius, Metacarpus, Tibia und Metatarsus. Der exakte Messpunkt wurde durch Palpation von Knochenvorsprüngen festgelegt und nach der Messung mittels pQCT-Bild verifiziert. Bei der Knochendichtemessung der Knochen post mortem wurde zuerst ein Übersichtsscan (scout view) im Längsschnitt angefertigt, um die Epiphysenfuge genau zu lokalisieren. Dann wurde die Knochendichte im Knochenquerschnitt genau gleich wie in vivo gemessen.

4.3.2. Auswertung der Messdaten

Für den Vergleich der mittels pQCT ermittelten Daten wurden drei Gruppen erstellt: Operierte Gliedmassen, kontralaterale nicht operierte Gliedmassen derselben Tiere sowie Gliedmassen von nicht operierten Kontrolltieren. Verglichen wurden die Parameter totale (BMD_{tot}), kortikale (BMD_{crt}) und trabekuläre (BMD_{trab}) Knochendichte sowie totaler (BMC_{tot}), kortikaler (BMC_{crt}) und trabekulärer (BMC_{trab}) Mineralstoffgehalt.

4.4. Immunhistochemie

Nach der Schlachtung wurden von allen Tieren Tibia, Metatarsus, Radius und Metacarpus entnommen und bis zur weiteren Verwendung eingefroren. Im gefrorenen Zustand wurden die distalen Knochenteile mit der Bandsäge in der Frontalebene (von lateral nach medial) in ca 3 mm breite, durch die Epiphysenfuge verlaufende Scheiben gesägt (Abbildung 16). Nach sorgfältigem Ablösen der Knochenscheiben wurden diese in 4% Formalin (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) fixiert. Die Knochenschnitte wurden fortlaufend von lateral nach medial durchnummeriert und abwechslungsweise zum Paraffinschnitt oder zur Kryokonservierung vorbereitet, wobei sowohl der medialste wie auch der lateralste Schnitt immer in Paraffin eingebettet wurde. Die Kryoschnitte wurden in dieser Studie nicht weiterverarbeitet. Der Knochenschnitt in der Mitte der Schnittreihe, das heisst, derjenige, welcher dem Zentrum des

Röhrenknochens entstammt, wurde zwecks Übersicht speziell markiert. Dann wurden die Schnitte in dafür vorgesehene und beschriftete Röhrchen verbracht. Die Knochenscheiben wurden zunächst 2 Tage im Formalin belassen, dann zum Entkalken in EDTA (Ethylendiamin Tetraessigsäure Dinatriumsalz 12%, pH 7, Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) eingelegt, welches regelmässig gewechselt wurde, bis nach 6 bis 8 Wochen der Knochen entkalkt war und in Paraffin eingebettet wurde.

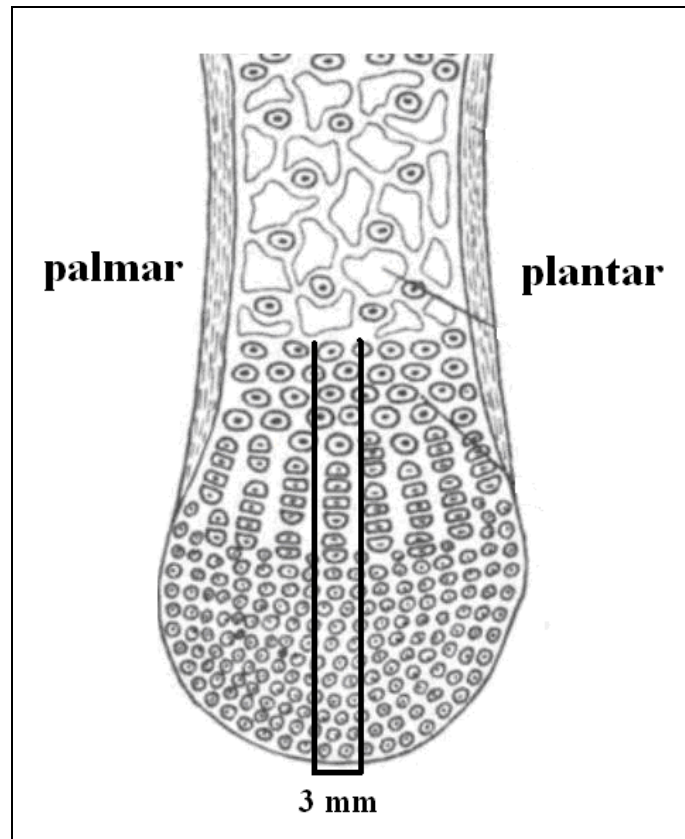


Abb. 16: Schematische Darstellung der Schnittführung durch die Epiphysenfuge eines Knochens für die immunhistochemische Auswertung.

Probenaufbereitung:

Die 2-3 μm dicken, ungefärbten Knochenschnitte wurden auf positiv geladene Objektträger (SuperFrost® Plus, Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland) aufgezogen und wie folgt für die Immunhistologie weiter verarbeitet: Mittels Xylol und einer absteigenden Alkoholreihe wurden die Schnitte entparaffiniert. Nach einer ca. 5 minütigen Gegenfärbung und Wässerung in Hämalun (Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill II; Merck, Zug, Schweiz) für 3-4 Minuten, folgte bei den Schnitten, auf welchen PTHR (Parathyroid Hormone Receptor) nachgewiesen wurde, eine Vorbehandlung, um die Epitope für die Antikörper frei zu legen.

Dies geschah in der Mikrowelle mit Citratpuffer pH 6.0 (Dako UK Ltd, Cambridgeshire, UK) für zweimal 10 Minuten bei 750 Watt. Anschliessend wurden die Schnitte mit M (Mouse) anti PTHR Type 1 (Dako UK Ltd, Cambridgeshire, UK) inkubiert. Bei den Schnitten, welche nachher mit dem R (Rabbit) anti PTHrP Antikörper (Parathyroid Hormone related Protein, H 137; Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA), dem R anti Ihh (Indian Hedge Hog, H88; Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA), dem M anti Human TGF beta (Transforming Growth Factor Beta; Chemicon International Inc., Temecula, California, USA) und dem R anti basic FGF-2 Antikörper (Basic Fibroblast Growth Factor-2; Chemicon International Inc., Temecula, California, USA) inkubiert wurden, war eine Vorbehandlung nicht nötig. Anschliessend wurden alle histologischen Schnitte 4 x blockiert, wobei zwischen den verschiedenen Schritten jeweils mit PBS (Phosphate Buffer Saline, pH 8) gewaschen wurde. Als erstes erfolgte der H₂O₂ Block, für 10 Minuten bei Raumtemperatur (RT), mittels 100 µl einer 3% H₂O₂-Lösung, versetzt mit 0.2% NaN₃ und H₂O (Hydrogenperoxide 30%; Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz; Natriumazid; Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland) zur Blockierung der endogenen Peroxidase. Anschliessend erfolgte der Avidin-Biotin-Block von je 20 minütiger Dauer bei RT (Blocking Kit; Vector Laboratories, Inc., Burlingame, California, USA). Schlussendlich folgte der Proteinblock von 10 minütiger Dauer (Dako UK Ltd, Cambridgeshire, UK) bei RT.

Nun waren die Schnitte bereit für die Inkubation mit den Primärantikörpern, mit welchen gesuchte Epitope oder Antigene markiert werden können. Folgende Antikörper wurden verwendet: M (Mouse) anti PTHR Type 1 (Verdünnung 1:10, Lab Vision/NeoMarkers), R anti PTHrP (H 137) (Verdünnung 1:3, Santa Cruz Biotechnology), R anti Ihh (H88) (Verdünnung 1:3, Santa Cruz Biotechnology), R anti basic FGF-2 (Verdünnung 1:1000, Chemicon) und der M anti Human TGF beta Antikörper (1:100, Chemicon). Die Schnitte wurden jeweils über Nacht bei RT inkubiert, wobei wie auch für die restlichen Laborschritte, immer eine Positiv- wie auch eine Negativ-Kontrolle mitgeführt wurden. Als Negativkontrolle wurden die jeweiligen Schnitte ohne Primärantikörper mitgeführt, als Positivkontrolle für TGF beta Lunge eines Schafes, für Ihh und PTHrP Knochen eines Schaffötens, für FGF Granulationsgewebe eines Pferdes und für PTHR Mamma eines Schafes.

Nach einem weiteren Spülgang mit PBS wurden alle Schnitte mit ChemMate™ (Peroxidase Conjugated DAKO, Detection Kit; Dako UK Ltd, Cambridgeshire, UK), ein Peroxidase-Kit mit einem Sekundär-Antikörper und Streptavidin-Peroxidase zu je 15 Minuten bei RT inkubiert. Dann wurden die Schnitte mit einem Chromogen angefärbt, welches mit der Peroxidase aus dem vorangehenden Schritt reagiert (AEC (RED), Substrate Kit; Zymed

Die histologischen Untersuchungen erfolgten an Dünnschnitten bei 200-facher (20er-Objektiv +) Vergrößerung im Lichtmikroskop (Leica DMR®; Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar, Deutschland). Dazu wurde die Epiphysenfuge in sechs Zonen unterteilt (Abb. 17), in welchen semiquantitative Messungen durchgeführt wurden. Jede Messung wurde nach den folgenden Kriterien beurteilt:

- 45

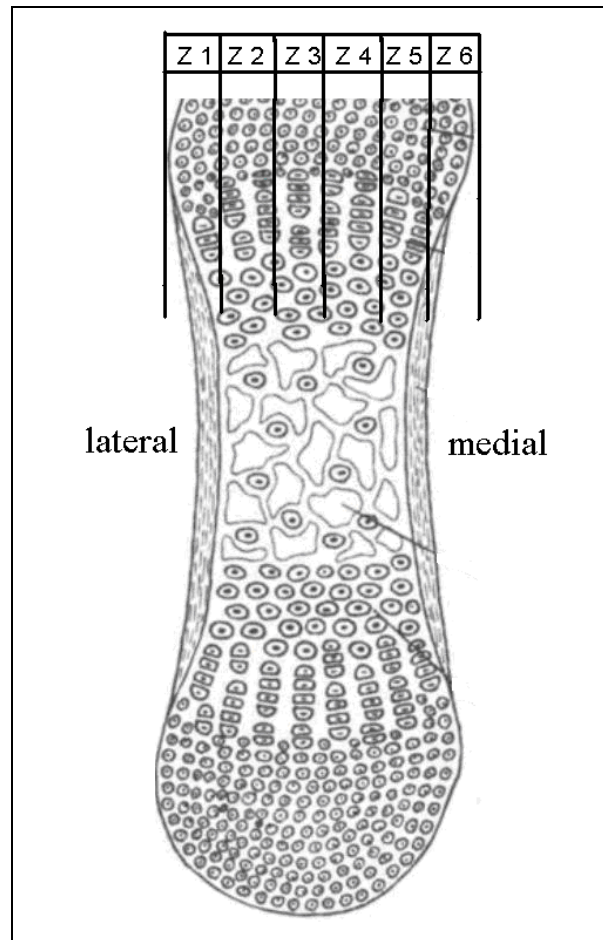


Abb. 17: Unterteilung der Epiphysenfuge zur semiquantitativen Beurteilung in die Zonen (Z) 1-6 von lateral nach medial.

4.5. Statistische Analyse

Die Analysen erfolgten mit dem Programm Systat® (Version 11.0, 2004, SPSS Inc., Chicago, USA). Dabei wurde eine wiederholte ANOVA mit dem Faktor "Group" durchgeführt. Falls bezüglich Gruppe oder Zeit ein signifikanter Unterschied errechnet wurde, dann wurden Folgetests durchgeführt. Die Gruppenunterschiede wurden mit dem "Mann-Wittney-U-Test", der zeitliche Vergleich mit dem "Wilcoxon-Test" berechnet. Das Signifikanzniveau wurde bei $p \leq 0.05$ festgelegt. Die Korrelationen zwischen Knochen- und Knorpelauf- und -abbau-markern wurden mittels linearer Regression ermittelt.

5. Resultate

5.1. Allgemeines

Die folgenden Resultate werden als Mittelwerte der Gruppen und deren Standardfehler (\pm STE) dargestellt. Signifikante Gruppeunterschiede ($p \leq 0.05$) werden mit Grossbuchstaben, zeitliche Signifikanzen mittels Symbolen gekennzeichnet. Die detaillierten Werte sind in Tabellenformat im Anhang aufgeführt.

5.2. Gesundheit der Tiere

Eines der operierten Lämmer wies postoperativ am rechten, operierten Hinterbein eine Schwellung mit Serombildung auf. Das Allgemeinbefinden war ungestört und es trat keine Lahmheit auf. Die Verabreichung von 0.04 ml Rimadyl[®] (Pfizer AG, Zürich, Schweiz) pro kg KGW wurde auf fünf Tage, jene von 0.05 ml Clamoxyl[®] (Pfizer AG, Zürich, Schweiz) pro kg KGW auf neun Tage verlängert.

5.3. Gewichtsentwicklung

Die Gewichtsentwicklung von operierten Tieren und Kontrolltieren verlief fast parallel. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen aufgezeigt werden. Das Gewicht zu Beginn des Versuchs lag bei den operierten Tieren bei 16.5 ± 0.5 kg und stieg dann bis zum Endgewicht von 18.9 ± 0.6 kg an. Die Kontrolltiere wiesen ein etwas höheres Anfangsgewicht von 17.3 ± 1.3 kg auf und erreichten ein Endgewicht von 20.0 ± 1.2 kg.

5.4. Blutwerte Lämmer

5.4.1. Verlauf der 1,25(OH)₂ Vitamin D-Konzentrationen im Serum

Tendenziell stiegen die mittleren Konzentrationen des 1,25(OH)₂ Vitamin D (1,25(OH)₂VitD) der op-Gruppe zu Beginn etwas weniger stark an als jene der nicht operierten Kontrollgruppe (Abb. 18). Beide Gruppen wiesen am Versuchsende tiefere 1,25(OH)₂VitD-Konzentrationen auf als zu Versuchsbeginn. Über die Zeit konnte bei der op-Gruppe ein signifikanter Unterschied ($p = 0.013$) zwischen Tag 2 (39.18 ± 5.87 pg/ml) und Tag 14 (23.19 ± 3.76 pg/ml) gezeigt werden. In der Kontrollgruppe fielen die mittleren Konzentrationen des 1,25(OH)₂VitD zwischen Tag 2 (46.03 ± 4.21 pg/ml) und Tag 22 (23.68 ± 2.62 pg/ml) signifikant ab ($p = 0.005$).

Die beiden Gruppen (operierte Tiere sowie nicht operierte Kontrolltiere) unterschieden sich bezüglich der 1,25(OH)₂VitD-Konzentrationen nicht signifikant voneinander.

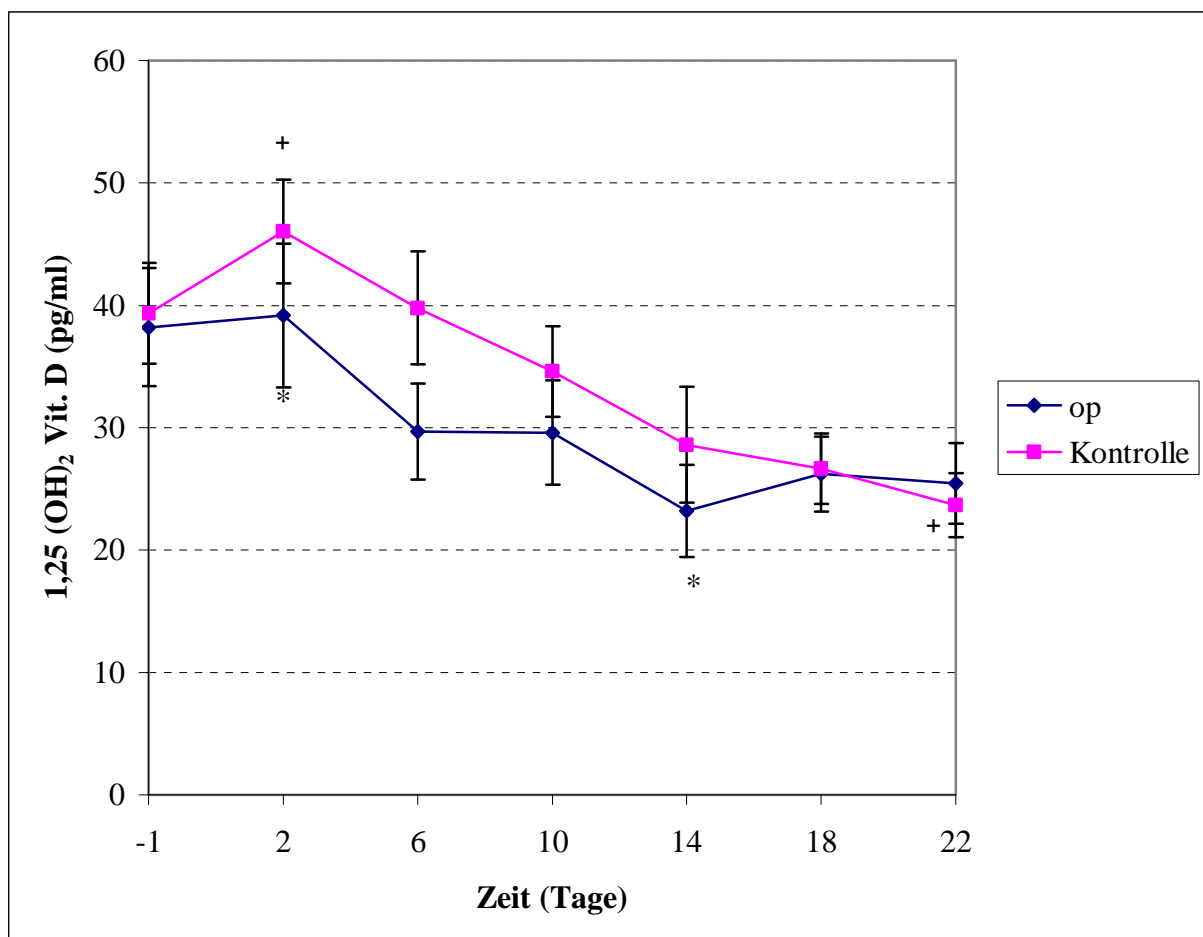


Abb. 18: Verlauf der mittleren Konzentrationen des 1,25(OH)₂ Vitamin D (1,25(OH)₂VitD) ± STE im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

*: Zeitliche Signifikanz von Tag 2 zu Tag 14 der op-Gruppe ($p = 0.013$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 2 zu Tag 22 der Kontrollgruppe ($p = 0.005$)

5.4.2. Verlauf der OC-Konzentrationen im Serum

Zu Beginn des Versuchs war bei der op-Gruppe ein Anstieg der mittleren Osteocalcin (OC)-Konzentrationen von 249.1 ± 25.9 ng/ml am Tag -1 bis zum Wert 259.1 ± 20.6 ng/ml am Tag 10 zu beobachten (Abb. 19). Anschliessend sanken die OC-Konzentrationen bis zum Versuchsende auf 205.5 ± 15.5 ng/ml ab. Die mittleren OC-Konzentrationen der Kontrollgruppe fielen im Verlaufe der Zeit vom Anfangswert von 285.1 ± 24.8 ng/ml bis zum Endwert von 164.2 ± 6.8 ng/ml langsam ab. Bei den Tieren der op-Gruppe fiel ein signifikanter Abfall ($p = 0.007$) zwischen Tag 14 (252.9 ± 18.8 ng/ml) und Tag 18 (207.3 ± 13.5 ng/ml) auf. In der Kontrollgruppe war zwischen Tag 2 (277.9 ± 24.9 ng/ml) und Tag 22 (164.2 ± 6.8 ng/ml) ein signifikanter Unterschied ($p = 0.007$) zu erkennen.

Die mittleren Osteocalcin-Konzentrationen im Gruppenvergleich zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede.

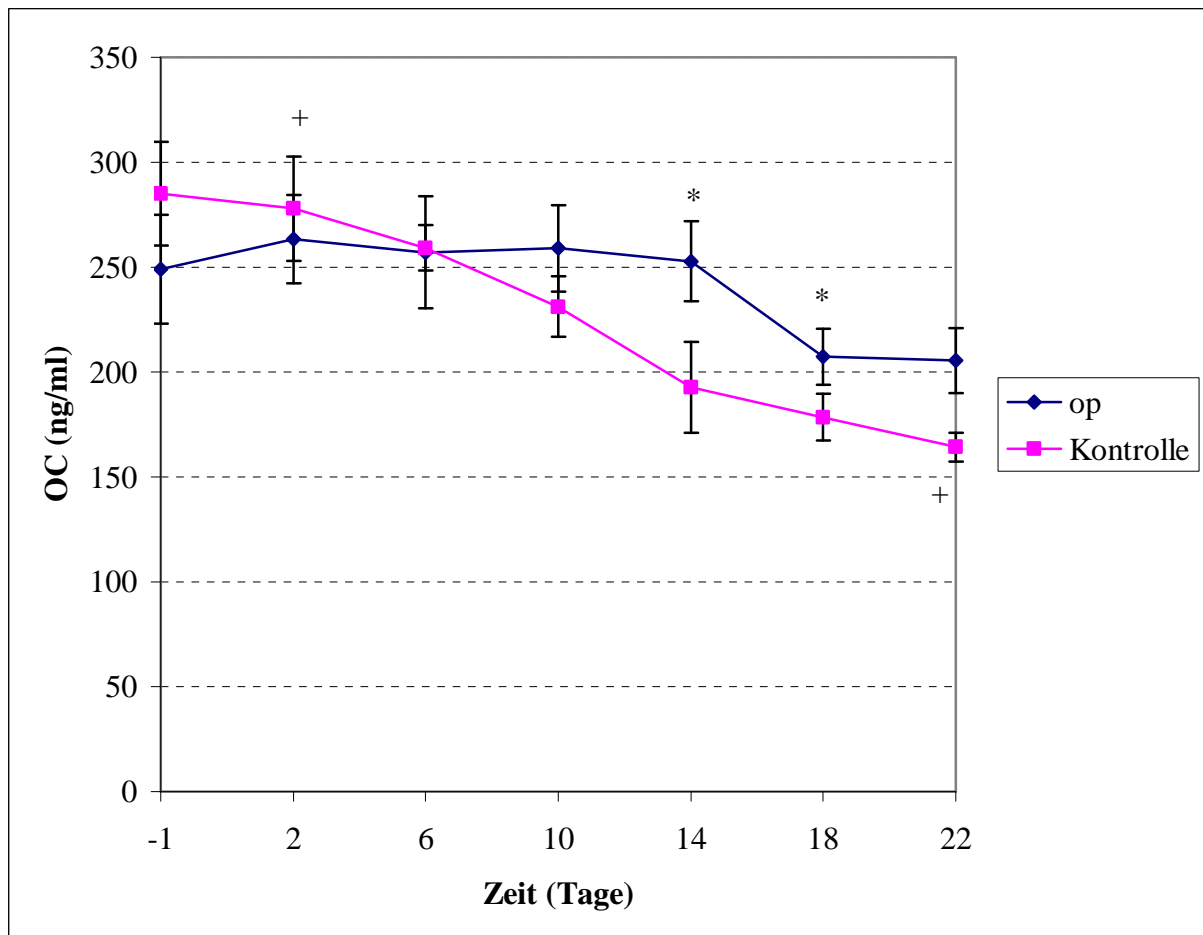


Abb. 19: Verlauf der mittleren Osteocalcin (OC)-Konzentrationen \pm STE im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

*: Zeitliche Signifikanz von Tag 14 zu Tag 18 der op-Gruppe ($p = 0.007$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 2 zu Tag 22 der Kontrollgruppe ($p = 0.007$)

5.4.3. Verlauf der bAP-Aktivitäten im Serum

Während die Tiere der op-Gruppe zu Versuchsbeginn tiefere mittlere knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)-Aktivitäten als zu Versuchsende aufwiesen, sanken die Werte der Kontrollgruppe zwischen Versuchsbeginn und -ende (Abb. 20). In der op-Gruppe fielen die mittleren bAP-Konzentration zwischen Tag -1 (87.34 ± 6.41 U/l) und Tag 6 (71.49 ± 4.60 U/l) signifikant ab ($p = 0.007$), während anschliessend ein signifikanter Anstieg ($p = 0.007$) bis zum Tag 22 (97.81 ± 5.96 U/l) zu beobachten war. In der Kontrollgruppe trat ein signifikanter Abfall ($p = 0.005$) einzig zwischen Tag -1 (93.63 ± 8.12 U/l) und Tag 2 (82.57 ± 6.20 U/l) auf, danach fielen die Aktivitäten kontinuierlich ab bis zum Endwert von 74.99 ± 6.55 U/l am Tag 22.

Es konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede festgestellt werden.

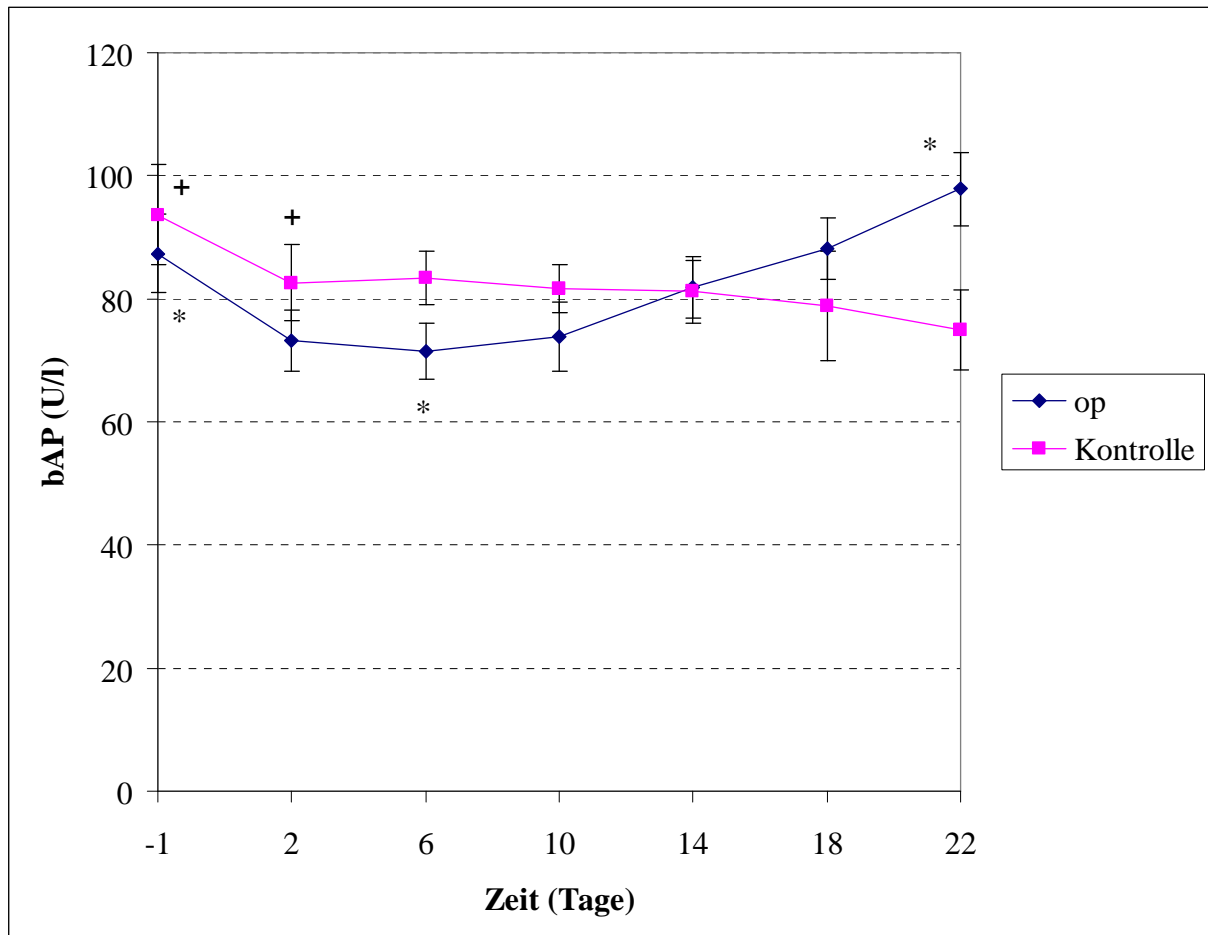


Abb. 20: Verlauf der Mittelwerte der Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bAP) im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

*: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 6 ($p = 0.007$) und von Tag 6 zu Tag 22 ($p = 0.007$) der op-Gruppe

+: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 2 ($p = 0.005$) der Kontrollgruppe

5.4.4. Verlauf der ICTP-Konzentrationen im Serum

Die mittleren Konzentrationen des quervernetzten carboxyterminalen Telopeptides des Typ-I-Kollagens (ICTP) verliefen in beiden Gruppen gleich (Abb. 21). Die mittleren Konzentrationen sanken im Verlauf der Zeit langsam ab. In der Gruppe der operierten Tiere konnte ein signifikanter Unterschied ($p = 0.005$) über die Zeit zwischen Tag -1 ($26.33 \pm 1.39 \mu\text{g/l}$) und Tag 14 ($21.57 \pm 1.40 \mu\text{g/l}$) beobachtet werden, während in der Kontrollgruppe ein zeitlich signifikanter Abfall ($p = 0.013$) zwischen Tag 2 ($25.94 \pm 0.94 \mu\text{g/l}$) und Tag 14 ($21.08 \pm 1.05 \mu\text{g/l}$) auftrat. Die mittleren Konzentrationen des ICTP zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede.

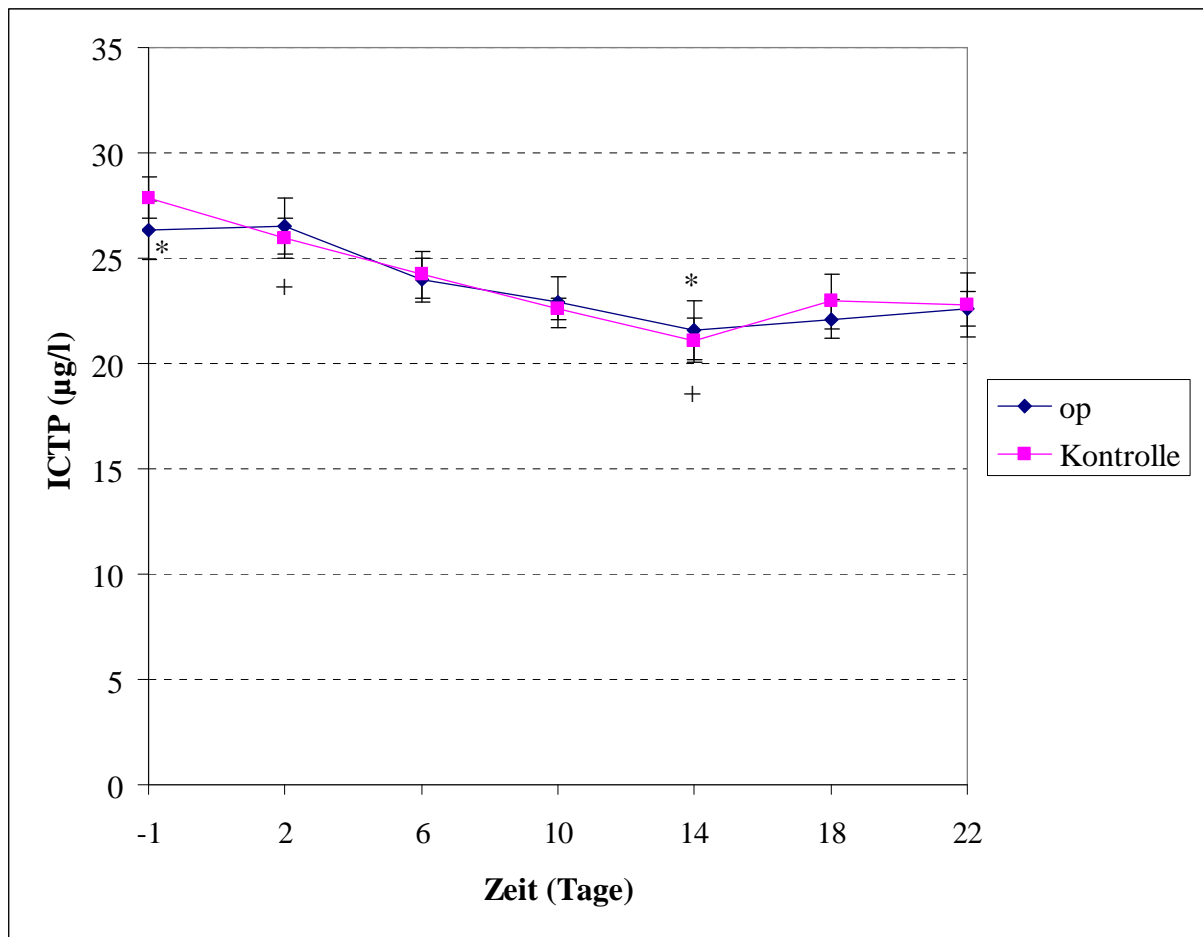


Abb. 21: Verlauf der Mittelwerte des quervernetzten carboxyterminalen Telopeptides des Typ-I-Kollagens (ICTP) \pm STE im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

*: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 14 der op-Gruppe ($p = 0.005$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 2 zu Tag 14 der Kontrollgruppe ($p = 0.013$)

5.4.5. Verlauf der CTX-I-Konzentrationen im Serum

Die mittleren Konzentrationen des carboxyterminalen Telozeptid-Fragmentes von Typ-I-Kollagen (CTX-I) verliefen während der Versuchsdauer mehr oder weniger konstant (Abb. 22). Während in der op-Gruppe der Anfangswert von 7315 ± 560 pmol/l deutlich höher lag als der Endwert von 6454 ± 331 pmol/l am Tag 22, waren in der Kontrollgruppe Anfangs- und Endwert identisch (6602 ± 455 pmol/l bzw. 468 pmol/l). Der Verlauf der mittleren CTX-I-Konzentrationen wies zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf.

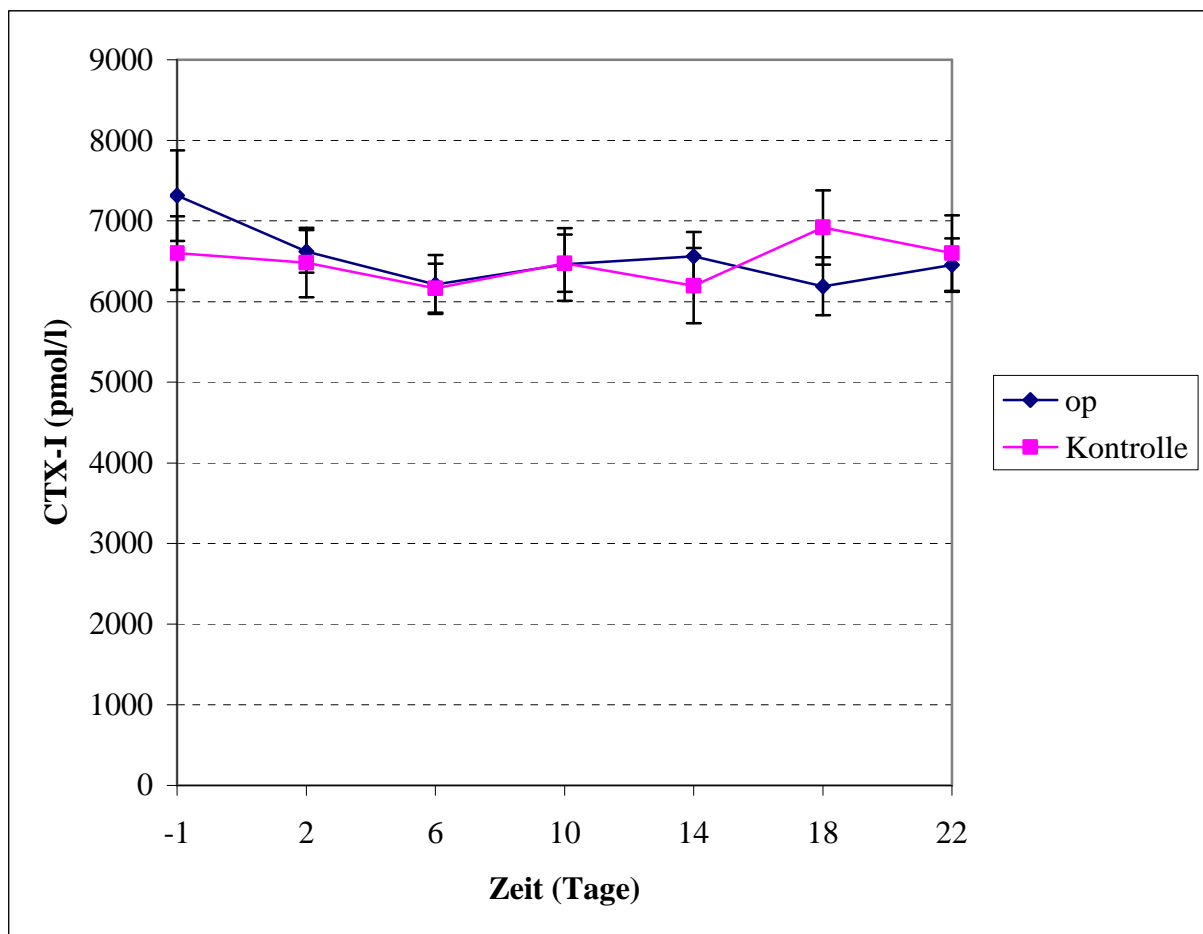


Abb. 22: Verlauf der Mittelwerte des Carboxyterminalen Telozeptid-Fragmentes von Typ-I-Kollagen (CTX-I) \pm STE im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.4.6. Abhängigkeit von OC und ICTP

5.4.6.1. Quotient OC/ICTP

Der Quotient OC/ICTP ist ein Mass für den Knochenumbau. Die Werte der operierten Tiere stiegen bis zum Tag 14 an und fielen dann bis zum Tag 22 signifikant ab (Abb. 23). Die Kontrolltiere hingegen zeigten einen stetigen signifikanten Abfall bis zum Versuchsende. Es konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede festgestellt werden.

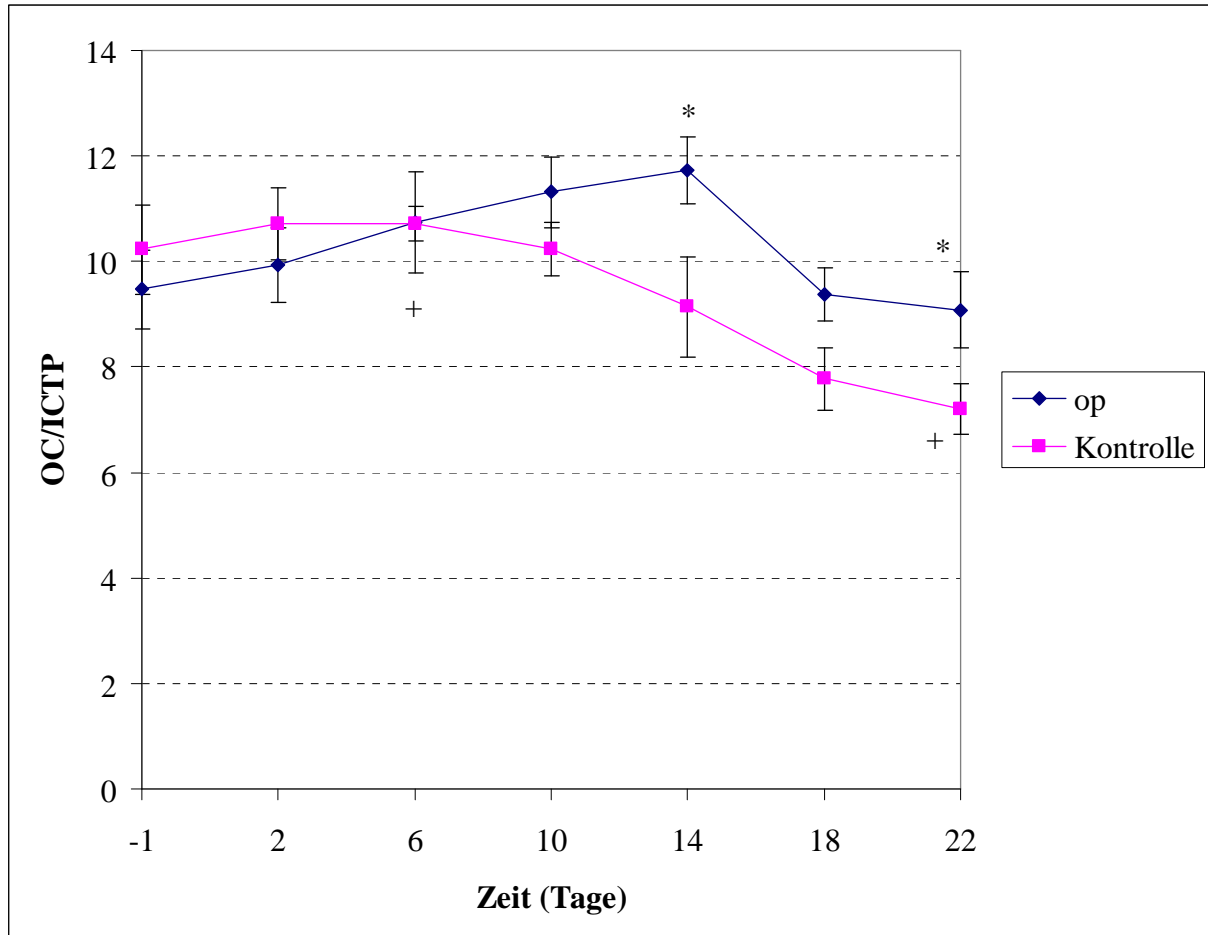


Abb. 23: Verlauf des Verhältnisses von OC (Knochenaufbaumarker) zu ICTP (Knochenabbaumarker) \pm STE im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

*: Zeitliche Signifikanz von Tag 14 zu Tag 22 der op-Gruppe ($p = 0.017$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 6 zu Tag 22 der Kontrollgruppe ($p = 0.005$)

5.4.6.2. Korrelation zwischen OC und ICTP

Die Korrelation zwischen OC und ICTP verlief positiv ($R^2 = 0.32$) (Abb. 24). Je mehr OC im Serum nachgewiesen wurde, desto höher fielen die ICTP-Konzentrationen aus. Höhere Konzentrationen an Knochenaufbaumerkern (OC) zogen also höhere Konzentrationen an Knochenabbaumerkern (ICTP) nach sich.

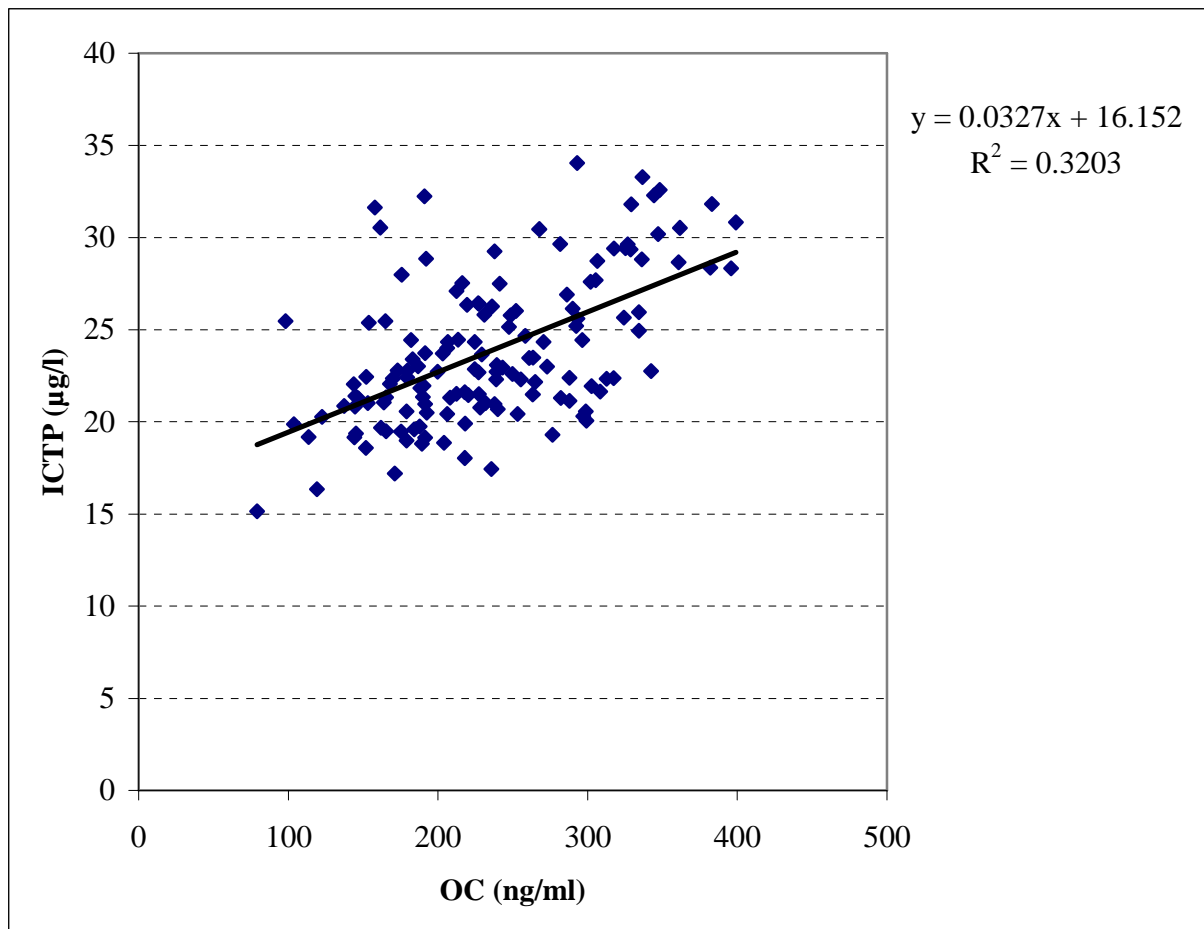


Abb. 24: Korrelation mit Regressionsanalyse von OC und ICTP im Serum der Lämmer ($R^2 = 0.32$), $p \leq 0.001$

5.4.7. Verlauf der CPII-Konzentrationen im Serum

Die mittleren Konzentrationen von Prokollagen II C-Propeptid (CPII) im Serum stiegen über die Zeit deutlich an, so dass es in der op-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg ($p = 0.005$) zwischen Tag -1 (1345.9 ± 50.6 ng/ml) und Tag 22 (2805.4 ± 166.9 ng/ml) kam, in der Kontrollgruppe hingegen zwischen Tag -1 (1528.9 ± 81.3 ng/ml) und Tag 18 (2686.2 ± 144.4 ng/ml) ($p = 0.005$) (Abb. 25). Es traten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede auf.

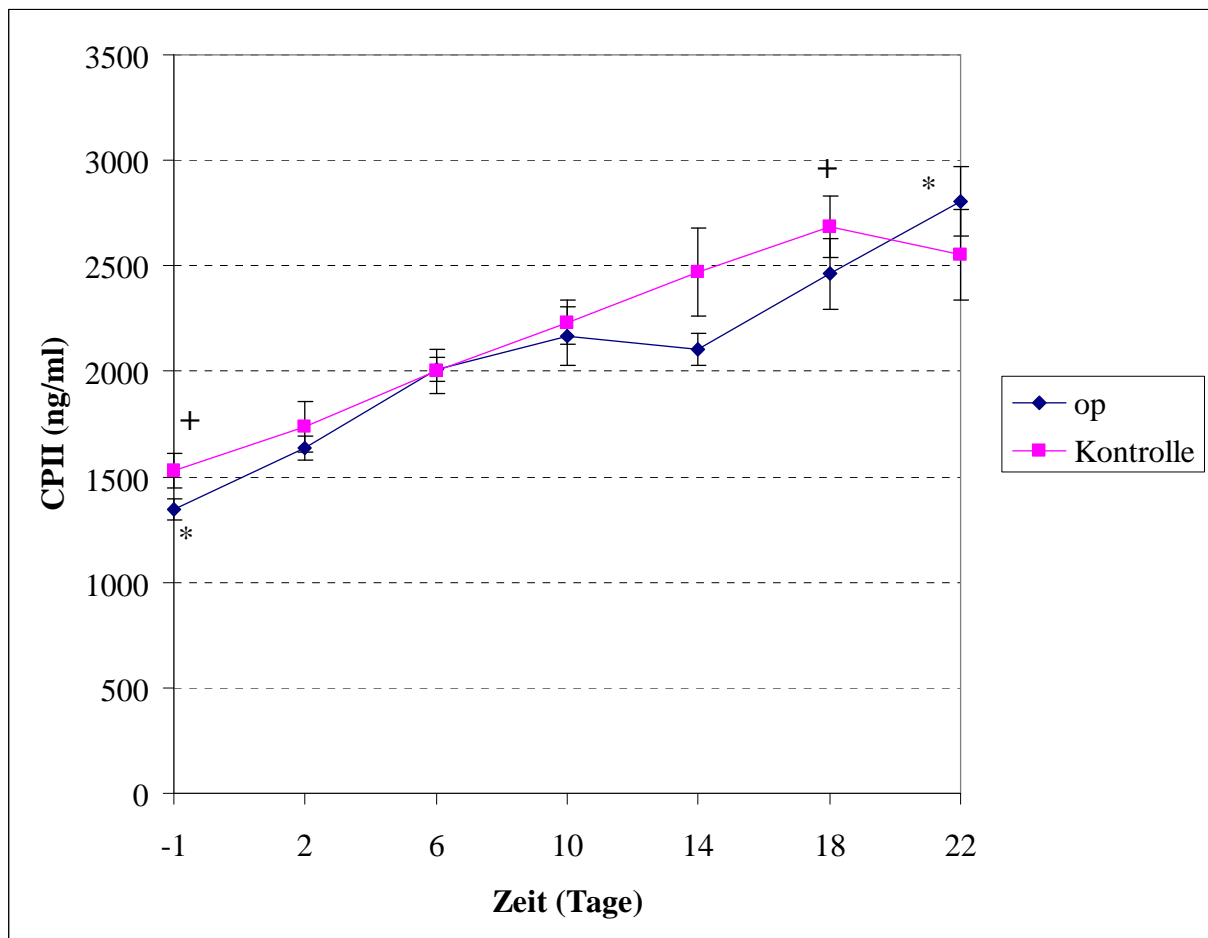


Abb. 25: Verlauf der Mittelwerte des Prokollagen II C-Propeptides (CPII) \pm STE im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

+: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 22 der op-Gruppe ($p = 0.005$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 18 der Kontrollgruppe ($p = 0.005$)

5.4.8. Verlauf der CTX-II-Konzentrationen im Serum

In der Gruppe der operierten Tiere sanken die mittleren Konzentrationen des C-terminalen Telozeptid-Fragmentes von Typ-II-Kollagen (CTX-II) vom Anfangswert von 534.3 ± 34.5 pg/ml bis zum Endwert von 402.5 ± 15.7 pg/ml (Abb. 26). Ein zeitlich signifikanter Abfall ($p = 0.007$) bestand zwischen Tag -1 (534.3 ± 34.5 pg/ml) und Tag 10 (393.2 ± 21.8 pg/ml). In der Gruppe der Kontrolltiere konnte im Verlaufe des Versuchs ebenfalls ein Absinken der Werte beobachtet werden, von 634.1 ± 21.5 pg/ml auf 432.6 ± 43.7 pg/ml. Ein signifikanter Abfall war ($p = 0.009$) zwischen Tag -1 (432.6 ± 43.7 pg/ml) und Tag 14 (426.1 ± 45.2 pg/ml) zu verzeichnen.

Am Tag 2 waren die CTX-II-Konzentrationen in der Kontrollgruppe signifikant höher ($p < 0.001$) als in der Gruppe der operierten Tiere. Zwischen Tag 6 und Tag 22 näherten sich die Konzentrationen beider Gruppen wieder an und es bestanden keine signifikanten Gruppenunterschiede mehr.

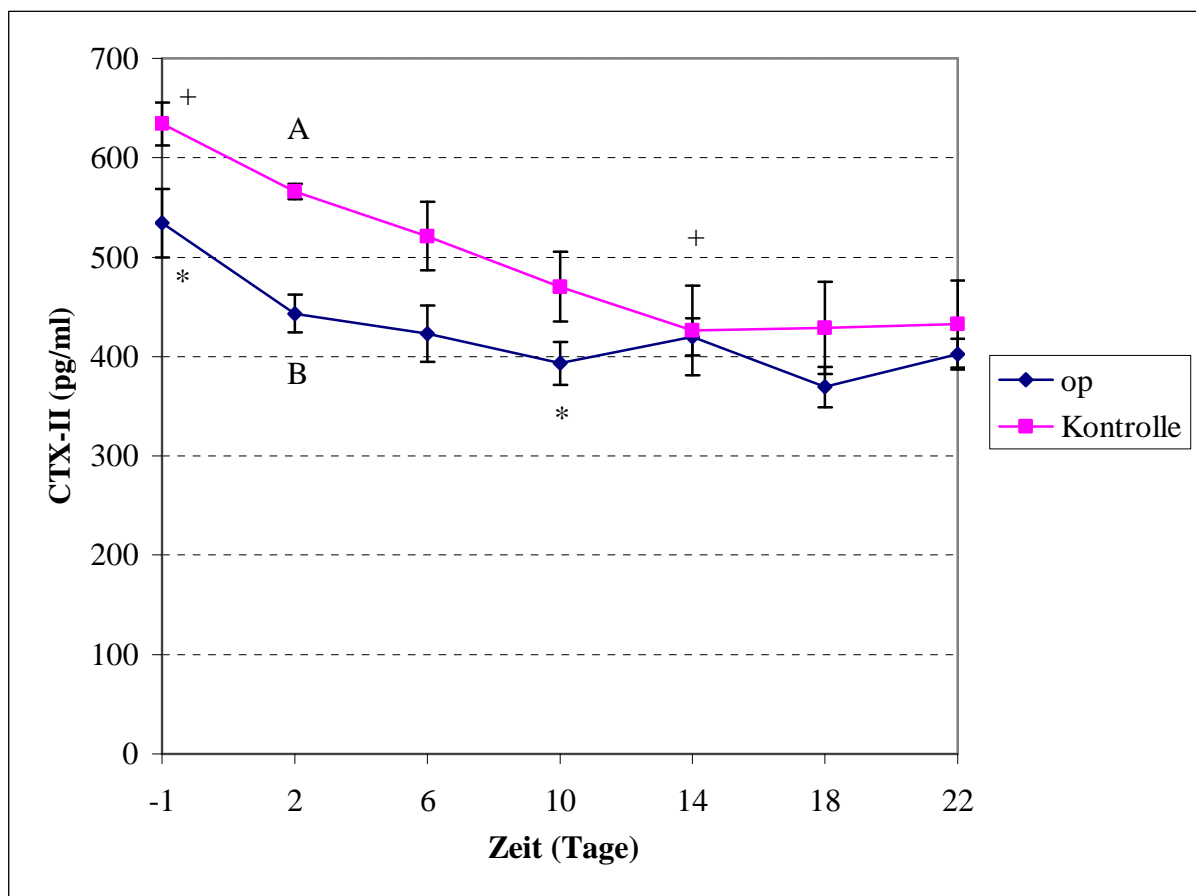


Abb. 26: Verlauf der Mittelwerte des C-terminalen Telozeptides von Typ-II-Kollagen (CTX-II) \pm STE im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

A-B: Signifikanz ($p < 0.001$) zwischen der op-Gruppe und der Kontrollgruppe am Tag 2

*: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 10 der op-Gruppe ($p = 0.007$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 14 der Kontrollgruppe ($p = 0.009$)

5.4.9. Abhängigkeit von CPII und CTX-II

5.4.9.1. Quotient CPII/CTX-II

Der Quotient CPII/CTX-II ist ein Mass für den Knorpelumbau. Die Werte der operierten Tiere stiegen bis zum Tag 10 an, zeigten am Tag 14 einen Einbruch und stiegen dann erneut bis zum Tag 22 (Abb. 27). Die Kontrolltiere zeigten einem Anstieg zwischen Versuchsbeginn und Tag 18, anschliessend fiel der Wert wieder auf das Niveau von Tag 14 ab. Die steigenden Werte kamen dadurch zustande, dass der Knorpelaufbau im Verlauf der Zeit stark zunahm, während der Knorpelabbau langsam abnahm und in der Folge konstant blieb. Es konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede festgestellt werden.

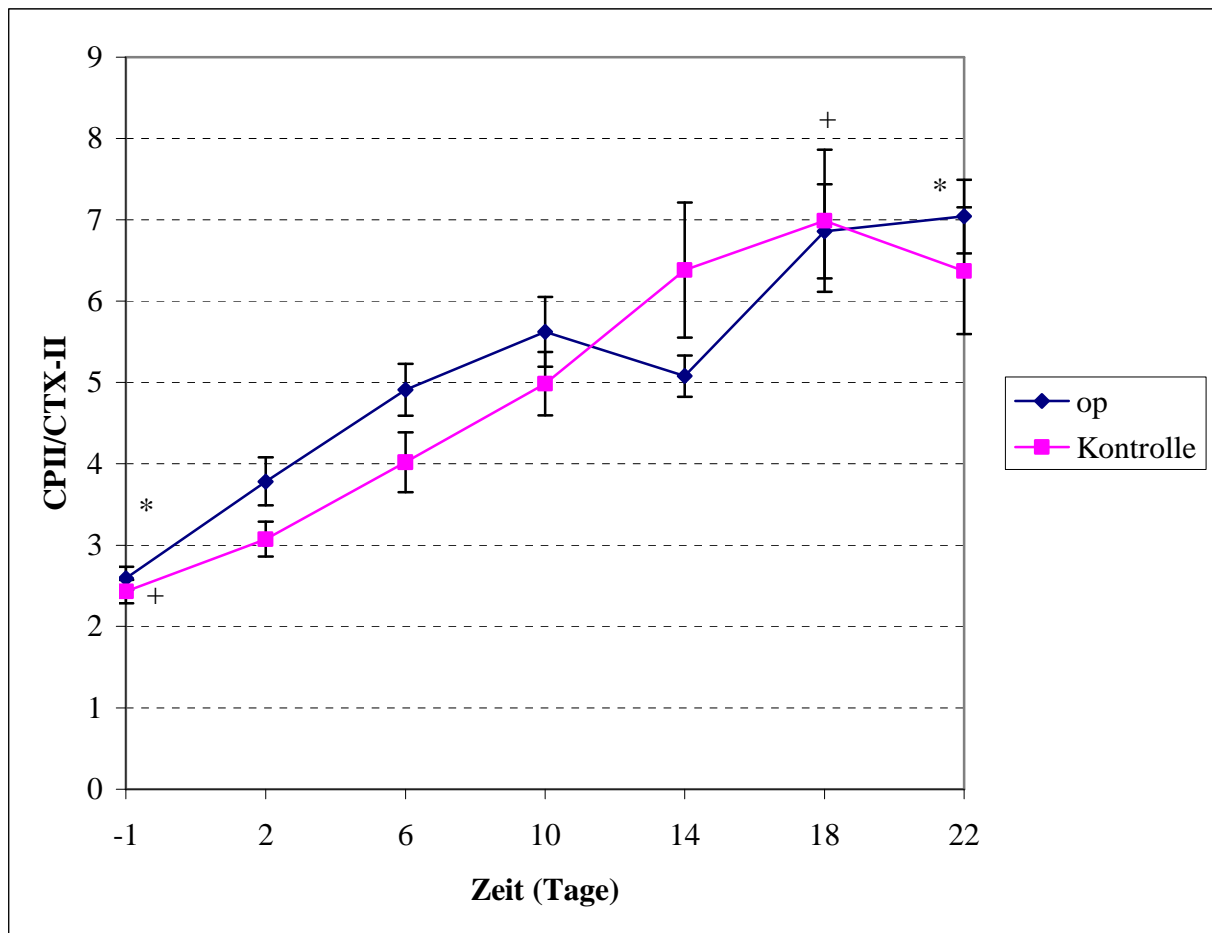


Abb. 27: Verlauf des Verhältnisses von CPII (Knorpelaufbaumarker) zu CTX-II (Knorpelabbauarker) \pm STE im Serum von operierten Lämmern (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

*: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 22 der op-Gruppe ($p = 0.005$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 18 der Kontrollgruppe ($p = 0.007$)

5.4.9.2. Korrelation zwischen CPII und CTX-II

Die Korrelation zwischen CPII und CTX-II verlief negativ ($R^2 = 0.15$) (Abb. 28). Die schwache Korrelation kann auf die hohe Streuung der Werte zurückgeführt werden.

Je mehr CPII im Serum nachgewiesen wurde, desto tiefer sanken die CTX-II-Konzentrationen. Je höher die Konzentrationen an Knorpelaufbaumarkern (CPII) waren, desto tiefer waren die Knorpelabbau-marker-Konzentrationen (CTX-II).

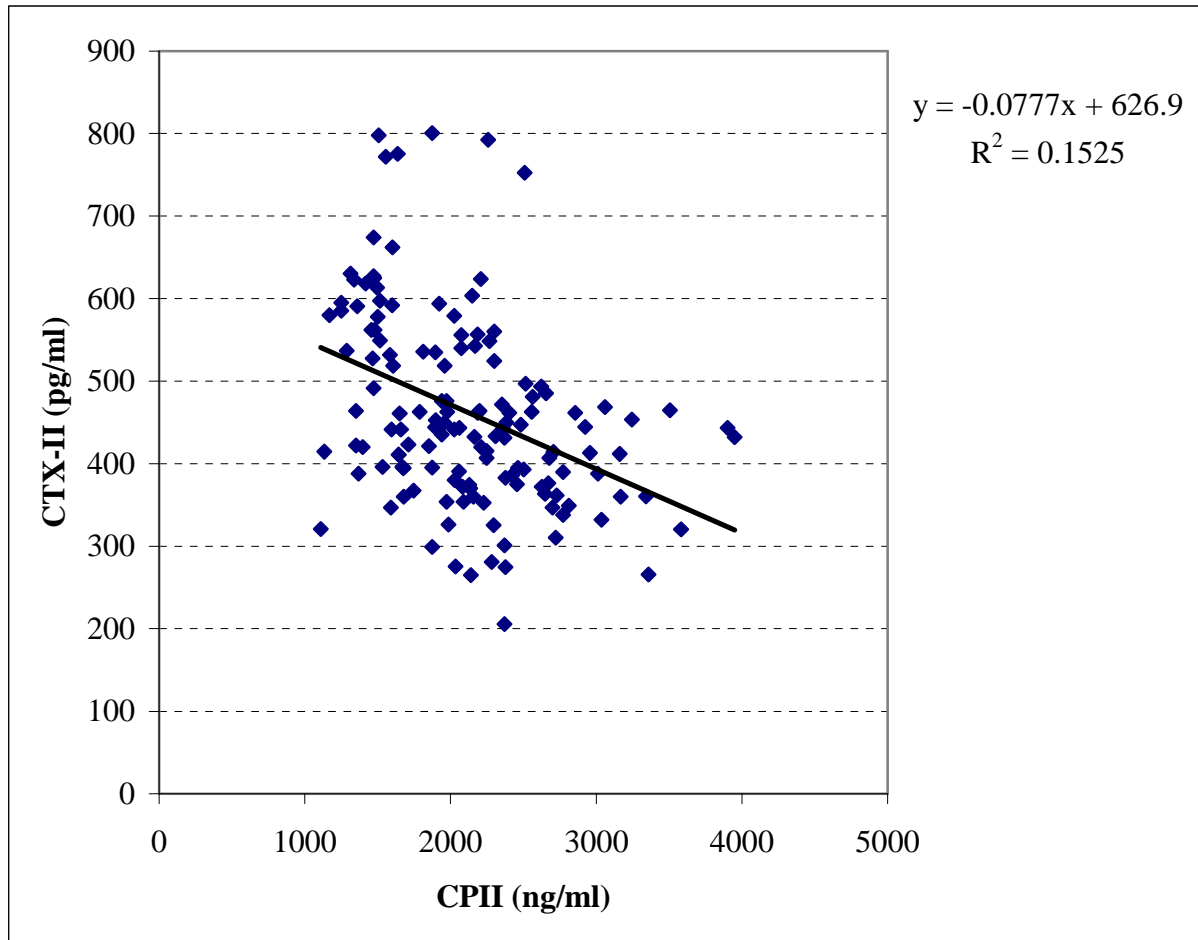


Abb. 28: Korrelation mit Regressionsanalyse von CPII und CTX-II im Serum der Lämmer ($R^2 = 0.15$), $p \leq 0.001$

5.5. Blutwerte Fohlen

5.5.1. Verlauf der $1,25(\text{OH})_2$ Vitamin D-Konzentrationen im Serum

Die mittleren Konzentrationen des $1,25(\text{OH})_2$ Vitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$) stiegen bei den operierten Fohlen von 14.25 ± 1.47 pg/ml zu Versuchsbeginn auf einen Wert von 24.24 ± 2.01 pg/ml am Versuchsende an (Abb. 29). Die Kontrolltiere wiesen zu Versuchsbeginn deutlich, aber nicht signifikant höhere Konzentrationen von 18.51 ± 4.26 pg/ml auf. Im Gegensatz zu den Werten der operierten Tiere stiegen die mittleren $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ -Konzentrationen der Kontrolltiere nur langsam auf einen Endwert von 23.18 ± 1.89 pg/ml an, so dass am Versuchsende die Kontrolltiere tiefere Werte aufwiesen als die operierten Tiere. Es konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede zwischen operierten und nicht operierten Fohlen festgestellt werden.

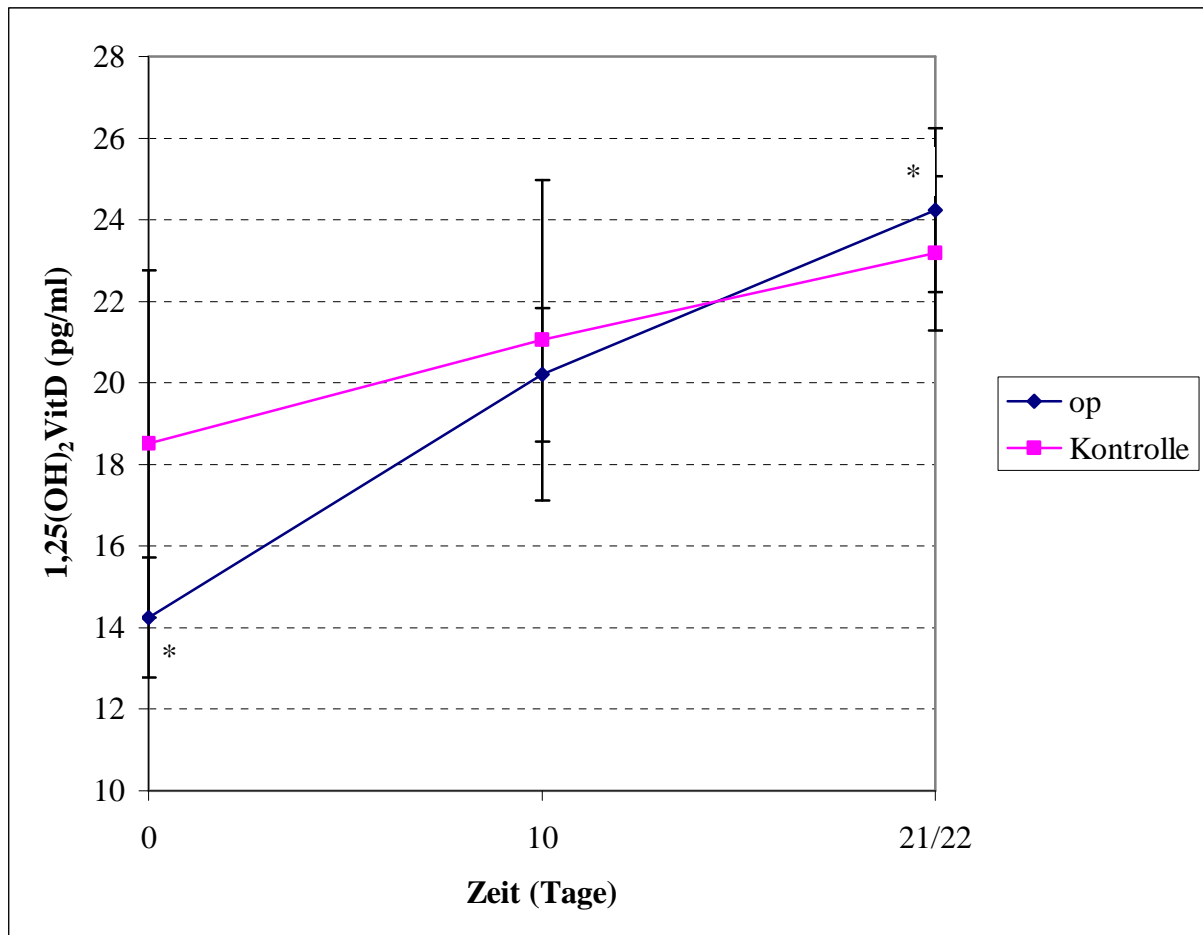


Abb. 29: Verlauf der mittleren $1,25(\text{OH})_2$ Vitamin D-Konzentrationen \pm STE im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

*: Zeitliche Signifikanz von Tag 0 zu Tag 21/22 der op-Gruppe ($p = 0.043$)

5.5.2. Verlauf der OC-Konzentrationen im Serum

Die mittleren OC-Konzentrationen der op-Gruppe stiegen vom Tag 0 (136.1 ± 16.8 ng/ml) bis zum Tag 21/22 (145.6 ± 16.4 ng/ml) kontinuierlich an (Abb. 30). Die Tiere der Kontrollgruppe wiesen deutlich, aber nicht signifikant, höhere Anfangskonzentrationen von 183.7 ± 23.7 ng/ml auf. In der Folge fielen die Konzentrationen bis zum Tag 21/22 (154.9 ± 7.3 ng/ml) ab. Die mittleren Osteocalcin-Konzentrationen im Gruppenvergleich zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den beiden Fohlengruppen.

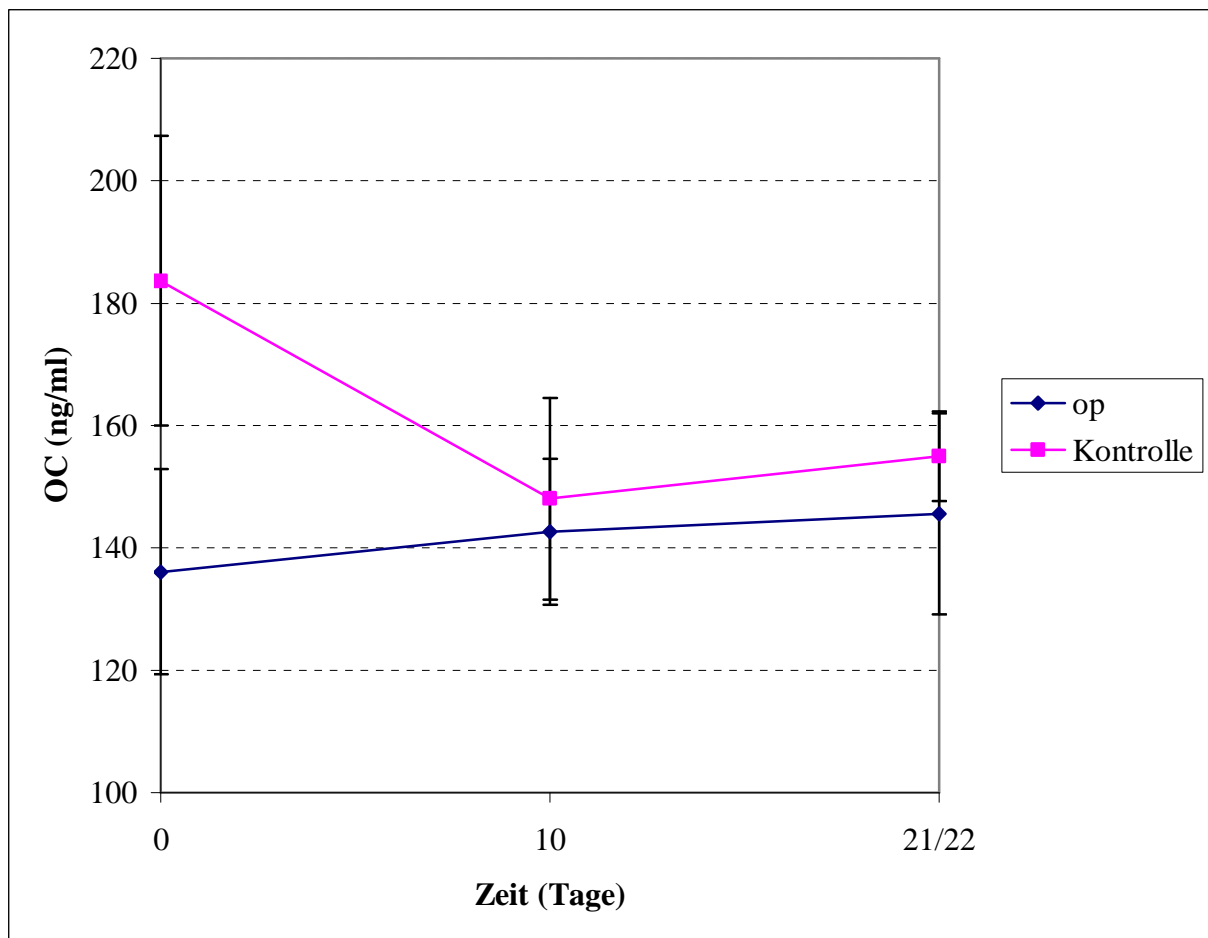


Abb. 30: Verlauf der mittleren Osteocalcin (OC)-Konzentrationen \pm STE im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.5.3. Verlauf der bAP-Aktivitäten im Serum

In der op-Gruppe fielen die mittleren bAP-Aktivitäten zwischen Versuchsbeginn (381.5 ± 59.8 U/l) und -ende (309.1 ± 32.8 U/l) deutlich, aber nicht signifikant ab (Abb. 31). In der Kontrollgruppe war nur ein minimaler Abfall zwischen Tag 0 (367.1 ± 12.5 U/l) und Tag 21/22 (351.7 ± 24.4 U/l) zu beobachten. Der Endwert lag also deutlich, aber nicht signifikant höher als bei den operierten Tieren.

Es konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede festgestellt werden.

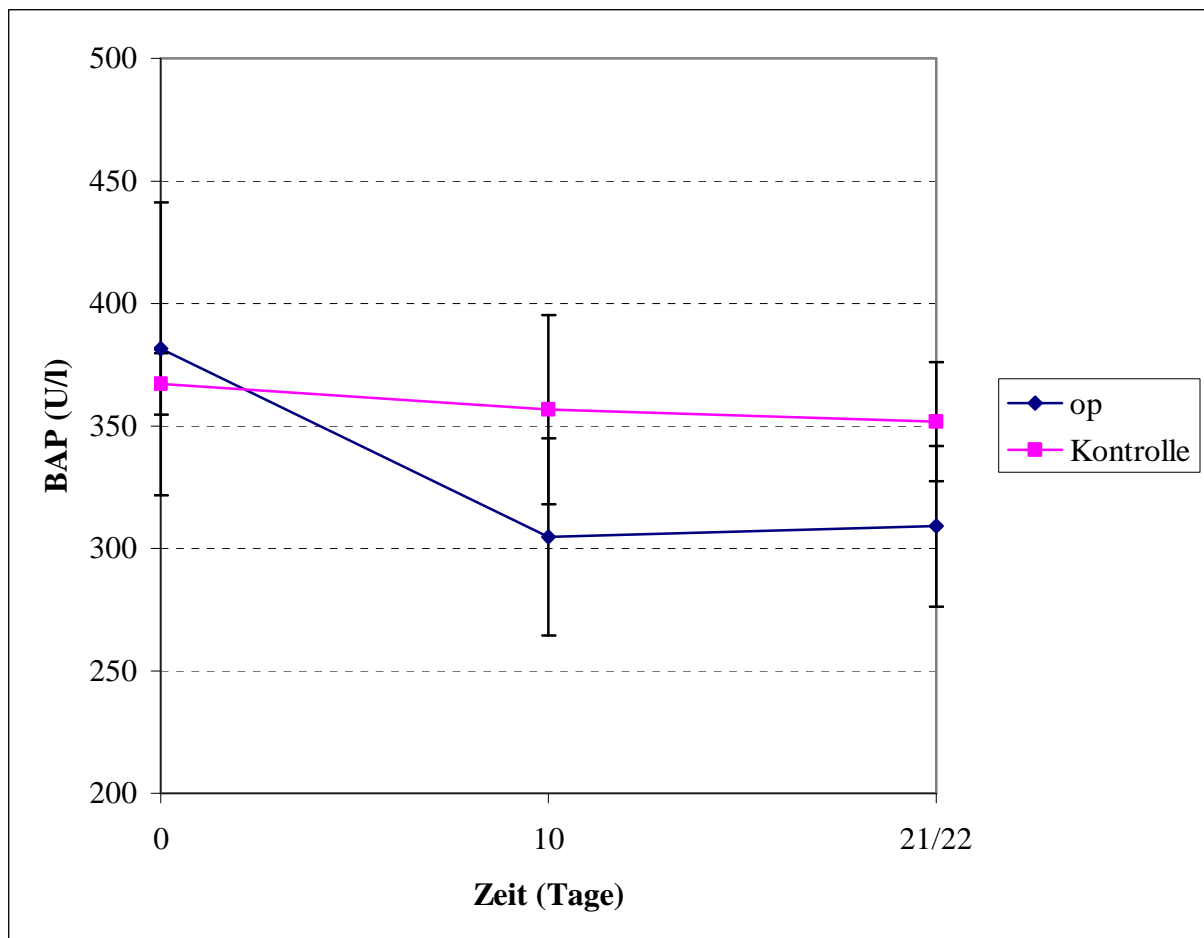


Abb. 31: Verlauf der Mittelwerte der Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bAP) im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.5.4. Verlauf der ICTP-Konzentrationen im Serum

Die mittleren Konzentrationen des quervernetzten carboxyterminalen Telopeptides des Typ-I-Kollagens (ICTP) verliefen in beiden Gruppen parallel. (Abb. 32). Die mittleren Konzentrationen sanken im Verlauf der Zeit langsam ab. In der Gruppe der operierten Tiere fielen die Werte von $29.33 \pm 1.24 \mu\text{g/l}$ auf $28.21 \pm 1.04 \mu\text{g/l}$, während in der Kontrollgruppe ein Abfall von $32.13 \pm 1.30 \mu\text{g/l}$ auf $30.56 \pm 0.89 \mu\text{g/l}$ auftrat. Die mittleren Konzentrationen des ICTP zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede.

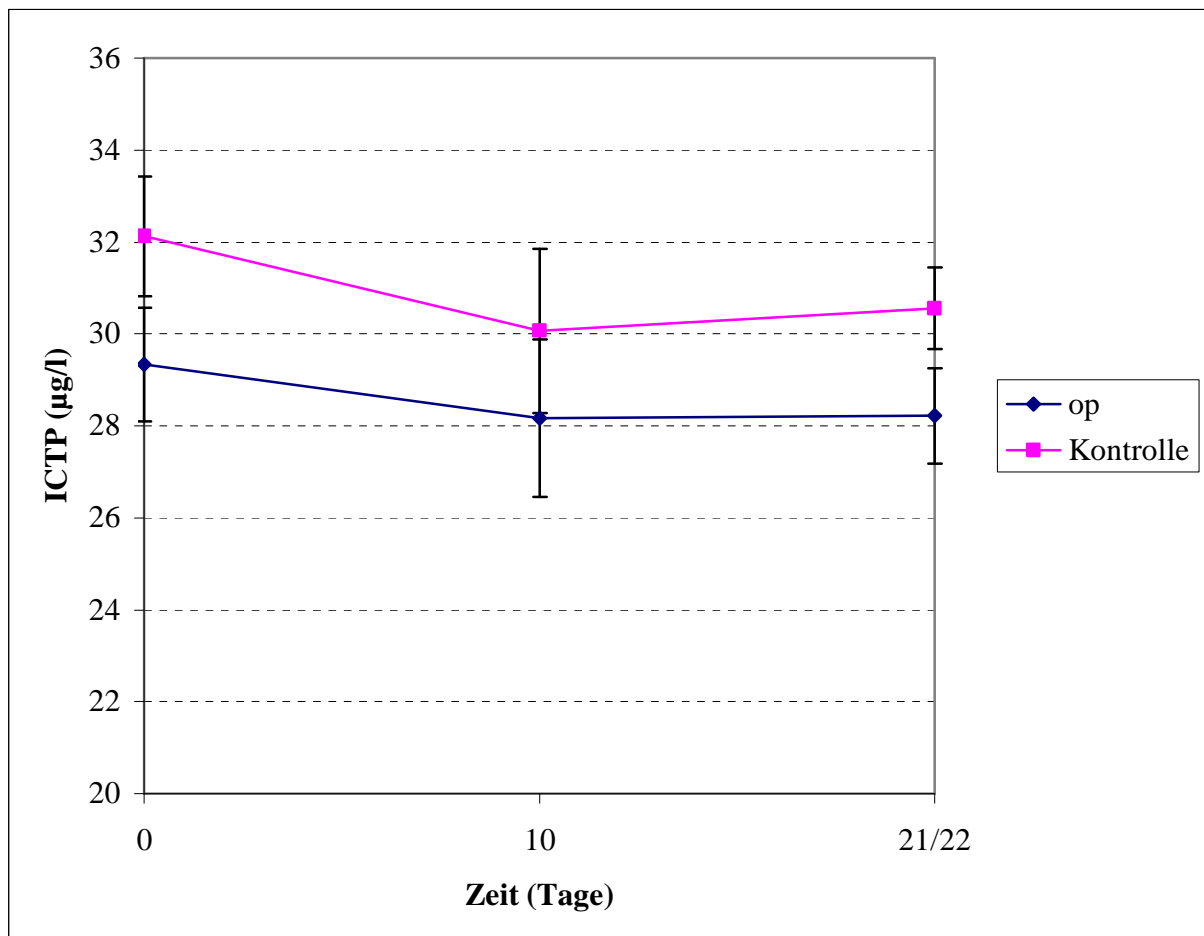


Abb. 32: Verlauf der Mittelwerte des quervernetzten carboxyterminalen Telopeptides des Typ-I-Kollagens (ICTP) \pm STE im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.5.5. Verlauf der CTX-I-Konzentrationen im Serum

Die mittleren Konzentrationen des carboxyterminalen Telozeptid-Fragmentes von Typ-I-Kollagen (CTX-I) fielen in der op-Gruppe von Tag 0 (1719 ± 386 pmol/l) bis Tag 21/22 (1626 ± 378 pmol/l) langsam ab (Abb. 33). In der Kontrollgruppe hingegen stiegen die CTX-I-Konzentrationen zwischen Tag 0 (1394 ± 301 pmol/l) und Tag 21/22 (1862 ± 275 pmol/l) deutlich, aber nicht signifikant an. Die mittleren Konzentrationen des CTX-I zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede.

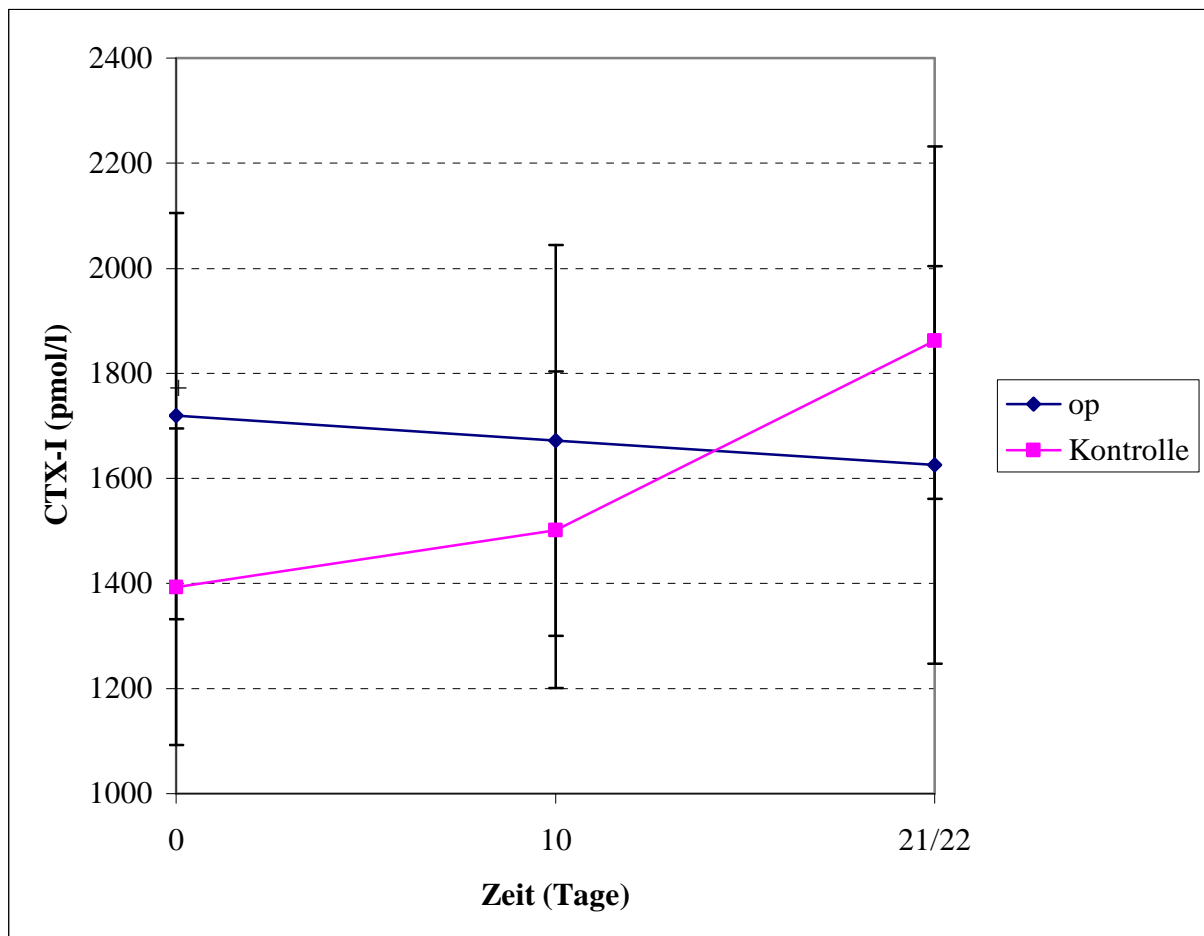


Abb. 33: Verlauf der Mittelwerte des Carboxyterminalen Telozeptid-Fragmentes von Typ-I-Kollagen (CTX-I) \pm STE im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.5.6. Abhängigkeit von OC und ICTP

5.5.6.1. Quotient OC/ICTP

Der Quotient OC/ICTP ist ein Mass für den Knochenumbau. Die Werte der operierten Tiere stiegen während der Versuchsdauer leicht an (Abb. 34). Die Kontrolltiere hingegen wiesen zu Beginn des Versuchs deutlich, aber nicht signifikant höhere Werte als die operierten Tiere auf, näherten sich diesen aber am Ende des Versuches an. Die Knochenumbaurate war damit bei den operierten Tieren zu Versuchsbeginn deutlich tiefer als bei den nicht operierten Kontrolltieren. Es konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede festgestellt werden.

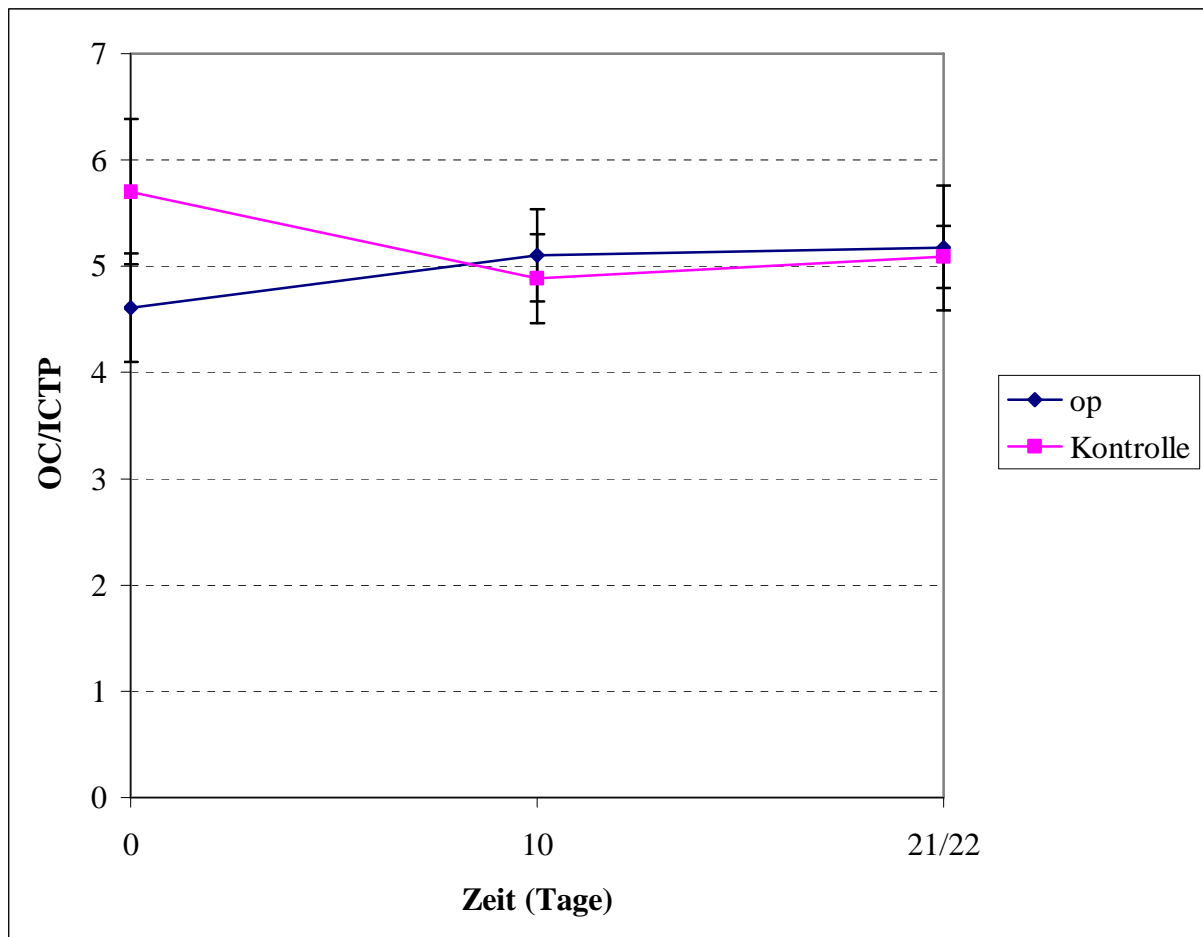


Abb. 34: Verlauf des Verhältnisses von OC (Knochenaufbaumarker) zu ICTP (Knochenabbaumarker) \pm STE im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.5.6.2. Korrelation zwischen OC und ICTP

Die Korrelation zwischen OC und ICTP verlief positiv ($R^2 = 0.28$) (Abb. 35). Je mehr OC im Serum nachgewiesen wurde, desto höher waren die ICTP-Konzentrationen. Es standen wenig Werte zur Verfügung, welche weit gestreut waren, was zu einer schwachen Korrelation führte.

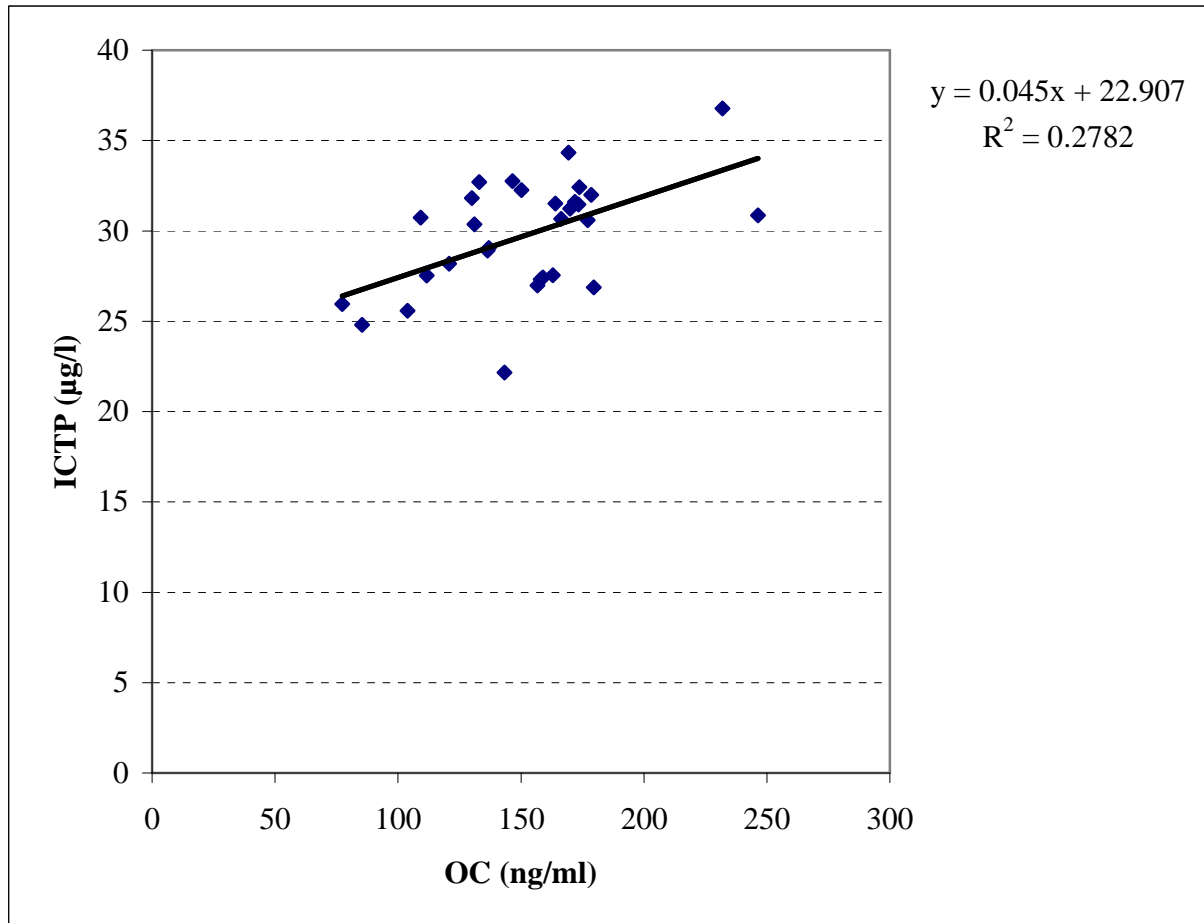


Abb. 35: Korrelation mit Regressionsanalyse von OC und ICTP im Serum der Fohlen ($R^2 = 0.28$), $p = 0.003$

5.5.7. Verlauf der CPII-Konzentrationen im Serum

Die mittleren Konzentrationen von Prokollagen II C-Propeptid (CPII) im Serum sanken in der op-Gruppe zwischen Tag 0 (2157.2 ± 276.9 ng/ml) und Tag 21/22 (1994.8 ± 345.9 ng/ml) langsam ab (Abb. 36). Die Gruppe der Kontrolltiere wies bereits zu Versuchsbeginn etwas höhere Konzentrationen auf (2385.0 ± 349.3 ng/ml), die dann bis zum Tag 21/22 (2814.6 ± 481.6 ng/ml) deutlich, aber nicht signifikant anstiegen. Es traten zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede auf.

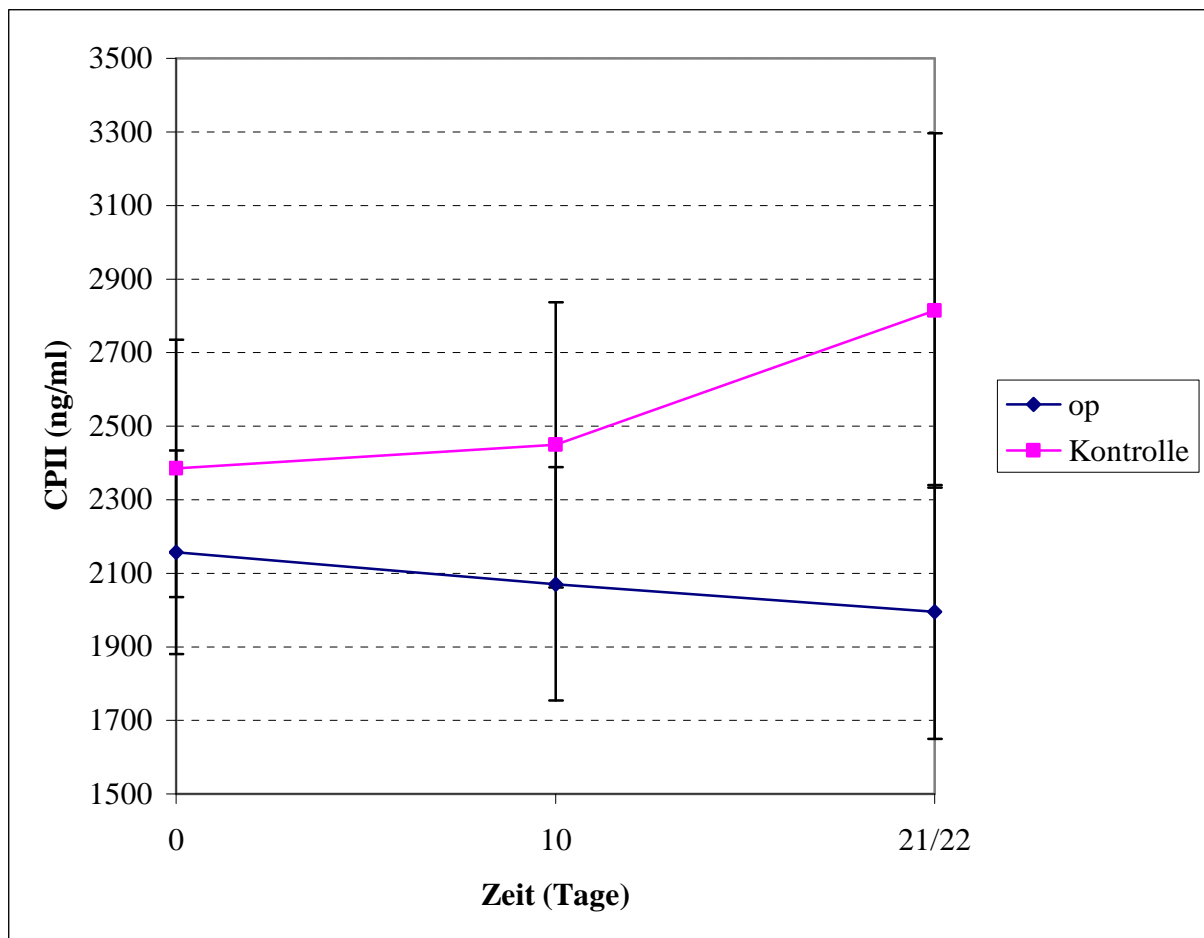


Abb. 36: Verlauf der Mittelwerte des Prokollagen II C-Propeptides (CPII) \pm STE im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.5.8. Verlauf der CTX-II-Konzentrationen im Serum

Die mittleren Konzentrationen des C-terminalen Telopeptid-Fragmentes von Typ-II-Kollagen (CTX-II) verliefen in den beiden Gruppen parallel (Abb. 37). Die op-Gruppe wies sowohl zu Beginn des Versuches (2833 ± 289 pg/ml) als auch am Versuchsende (2265 ± 106 pg/ml) tiefere Konzentrationen auf als die Kontrollgruppe, deren Werte von 3298 ± 271 pg/ml am Tag 0 auf 2698 ± 190 pg/ml am Tag 21/22 absanken. Signifikante Gruppenunterschiede konnten zu keinem Zeitpunkt beobachtet werden.

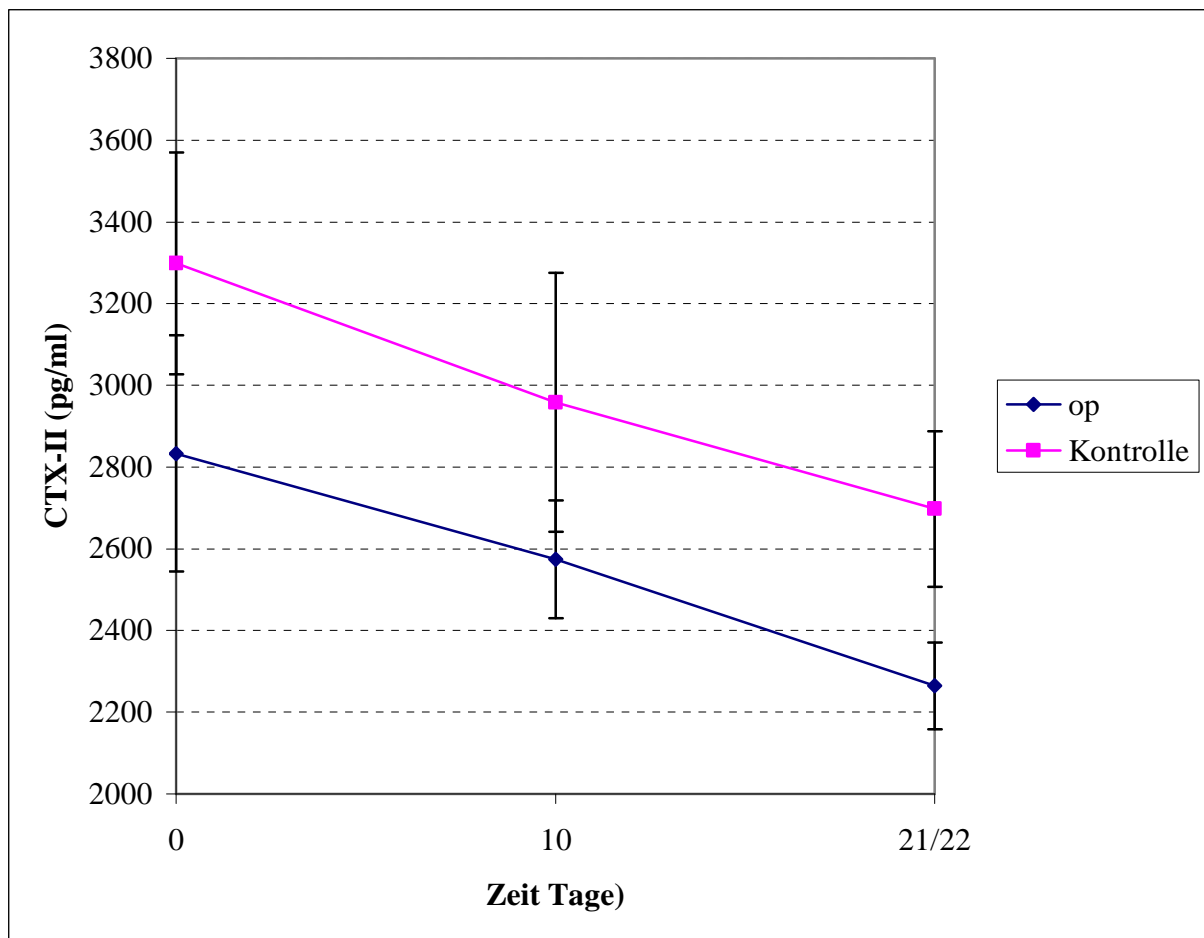


Abb. 37: Verlauf der Mittelwerte des C-terminalen Telopeptids von Typ-II-Kollagen (CTX-II) \pm STE im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.5.9. Abhängigkeit von CPII und CTX-II

5.5.9.1. Quotient CPII/CTX-II

Der Quotient CPII/CTX-II ist ein Mass für den Knorpelumbau. Die Werte der operierten Tiere stiegen über die Dauer des Versuches leicht an, diejenigen der Kontrolltiere etwas stärker (Abb. 38). Die steigenden Werte kamen dadurch zustande, dass der Knorpelaufbau im Verlauf der Zeit in der op-Gruppe gar nicht, in der Kontrollgruppe nur leicht zunahm, während der Knorpelabbau in beiden Gruppen in stärkerem Masse abnahm. Insgesamt konnte also über die Zeit eine steigende Knorpelumbaurate beobachtet werden. Es konnten jedoch zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede festgestellt werden.

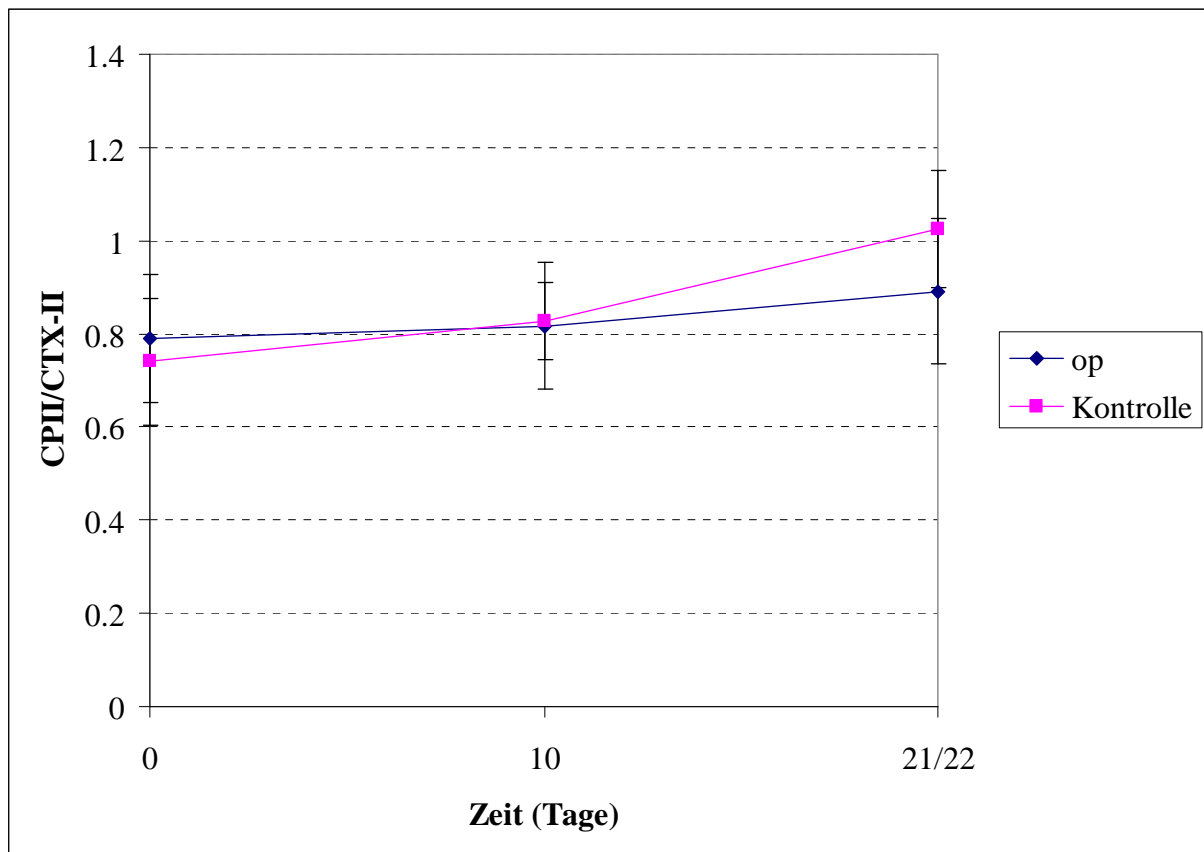


Abb. 38: Verlauf des Verhältnisses von CPII (Knorpelaufbaumarker) zu CTX-II (Knorpelabbauarker) \pm STE im Serum von operierten Fohlen (op) und nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle).

5.5.9.2. Korrelation zwischen CPII und CTX-II

Es bestand eine positive Abhängigkeit zwischen CPII und CTX-II. Die Korrelation war schwach ($R^2 = 0.13$; $p = 0.050$), da nur wenige Werte zur Verfügung standen.

5.6. Knochenparameter der Lämmer

Über die Zeit stieg die totale Knochendichte (BMD_{tot}) in allen Gruppen an, wobei der Anstieg in der Gruppe der operierten Gliedmassen sowie in der Gruppe der kontralateralen nicht operierten Gliedmassen derselben Tiere signifikant war. Die Gruppe der nicht operierten Kontrolltiere zeigt nur einen geringen, nicht signifikanten Anstieg. Der totale Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}) veränderte sich über die Zeit in allen Gruppen nur wenig, während der kortikale Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) über die Zeit sowohl bei den operierten als auch bei den kontralateralen Gliedmassen signifikant zunahm und der trabekuläre Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}) in allen Gruppen signifikant abnahm. Die Werte der pQCT-Messungen an der distalen Epiphysenfuge der Tibia (Tabelle 5) zeigten zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 5: Mittelwerte der pQCT-Messungen \pm STE der distalen Epiphysenfuge der **Tibia** präoperativ und nach 22 Tagen: totale Knochendichte (BMD_{tot}), kortikale Knochendichte (BMD_{crt}), trabekuläre Knochendichte (BMD_{trab}), totaler Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}), kortikaler Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) und trabekulärer Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}).

* = signifikanter Unterschied (Signifikanzniveau = 0.05) zwischen Tag -1 und Tag 22.

Parameter	operierte Gliedmassen		kontralaterale Gliedm.		Kontrolle	
	d-1	d22	d-1	d22	d-1	d22
BMD_{tot} (mg/cm ³)	399.0 \pm 7.1	440.4 \pm 13.6 *	403.2 \pm 9.6	439.0 \pm 14.3 *	418.4 \pm 13.4	427.7 \pm 15.1
BMD_{crt} (mg/cm ³)	531.7 \pm 37.8	520.0 \pm 10.9	550.2 \pm 38.0	515.0 \pm 12.4	547.3 \pm 40.6	497.5 \pm 14.4
BMD_{trab} (mg/cm ³)	349.5 \pm 8.9	330.6 \pm 10.4	347.5 \pm 11.1	339.9 \pm 14.2	344.1 \pm 13.5	336.6 \pm 16.5
BMC_{tot} (mg/cm ³)	231.7 \pm 10.0	228.5 \pm 8.0	236.5 \pm 11.1	236.7 \pm 8.6	238.2 \pm 18.7	226.8 \pm 12.4
BMC_{crt} (mg/cm ³)	143.7 \pm 22.7	181.2 \pm 9.3 *	124.1 \pm 32.3	189.2 \pm 11.7 *	173.6 \pm 24.9	177.3 \pm 14.2
BMC_{trab} (mg/cm ³)	100.0 \pm 7.0	77.2 \pm 3.1 *	113.0 \pm 9.4	82.6 \pm 4.0 *	98.6 \pm 8.2	79.1 \pm 5.0 *

Über die Zeit war bei allen drei Gruppen sowohl bei der trabekulären Knochendichte (BMD_{trab}) als auch beim trabekulären Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}) ein signifikanter Anstieg der Werte zu beobachten. Im Gegensatz zu den Werten des trabekulären Mineralstoffgehaltes (BMC_{trab}) der Tibia, welche über die Zeit in allen Gruppen abfielen, stiegen die Werte des trabekulären Mineralstoffgehaltes (BMC_{trab}) des Metatarsus (Tabelle 6) in allen Gruppen an. Die Knochenparameter des Metatarsus wiesen im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede auf.

Tab. 6: Mittelwerte der pQCT-Messungen \pm STE der distalen Epiphysenfuge des **Metatarsus** präoperativ und nach 22 Tagen: totale Knochendichte (BMD_{tot}), kortikale Knochendichte (BMD_{crt}), trabekuläre Knochendichte (BMD_{trab}), totaler Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}), kortikaler Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) und trabekulärer Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}).

* = signifikanter Unterschied (Signifikanzniveau = 0.05) zwischen Tag -1 und Tag 22.

Parameter	operierte Gliedmassen		kontralaterale Gliedm.		Kontrolle	
	d-1	d22	d-1	d22	d-1	d22
BMD_{tot} (mg/cm ³)	336.5 \pm 13.0	362.2 \pm 11.9	325.8 \pm 14.9	356.7 \pm 11.5	332.4 \pm 12.2	363.1 \pm 13.8 *
BMD_{crt} (mg/cm ³)	438.8 \pm 9.6	423.6 \pm 6.8	429.8 \pm 9.4	431.8 \pm 6.1	418.9 \pm 7.9	427.9 \pm 8.5
BMD_{trab} (mg/cm ³)	291.2 \pm 20.2	346.1 \pm 13.9 *	283.0 \pm 18.1	340.5 \pm 13.1 *	323.3 \pm 18.3	356.5 \pm 16.9 *
BMC_{tot} (mg/cm ³)	121.3 \pm 9.5	147.7 \pm 6.4 *	117.0 \pm 8.7	139.6 \pm 8.4	132.6 \pm 11.0	150.8 \pm 7.7 *
BMC_{crt} (mg/cm ³)	70.6 \pm 10.4	91.6 \pm 11.1 *	58.5 \pm 9.6	86.3 \pm 9.7 *	67.7 \pm 14.1	90.4 \pm 10.6
BMC_{trab} (mg/cm ³)	49.8 \pm 4.9	63.4 \pm 3.2 *	47.5 \pm 4.5	60.0 \pm 4.0 *	57.7 \pm 5.6	66.3 \pm 3.7 *

Auch beim Radius (Tabelle 7) traten im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede auf. Zeitlich signifikante Zunahmen zwischen Tag -1 und Tag 22 waren beim totalen Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}) der operierten sowie der kontralateralen nicht operierten Gliedmassen zu beobachten, während die Werte der Kontrollgruppe sich kaum veränderten.

Tab. 7: Mittelwerte der pQCT-Messungen \pm STE der distalen Epiphysenfuge des **Radius** präoperativ und nach 22 Tagen: totale Knochendichte (BMD_{tot}), kortikale Knochendichte (BMD_{crt}), trabekuläre Knochendichte (BMD_{trab}), totaler Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}), kortikaler Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) und trabekulärer Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}).

* = signifikanter Unterschied (Signifikanzniveau = 0.05) zwischen Tag -1 und Tag 22.

Parameter	operierte Gliedmassen		kontralaterale Gliedm.		Kontrolle	
	d-1	d22	d-1	d22	d-1	d22
BMD_{tot} (mg/cm ³)	325.4 \pm 20.1	339.4 \pm 13.7	315.0 \pm 7.3	337.6 \pm 15.6	323.0 \pm 11.4	338.4 \pm 10.1
BMD_{crt} (mg/cm ³)	441.0 \pm 14.7	441.8 \pm 8.3	415.4 \pm 4.0	438.4 \pm 13.0	417.4 \pm 7.8	426.2 \pm 9.8
BMD_{trab} (mg/cm ³)	259.0 \pm 16.6	274.4 \pm 15.3	263.4 \pm 9.6	265.8 \pm 10.8	256.2 \pm 13.1	280.5 \pm 15.9
BMC_{tot} (mg/cm ³)	166.4 \pm 10.0	204.7 \pm 10.0 *	170.4 \pm 12.2	202.6 \pm 6.7 *	202.2 \pm 16.1	201.5 \pm 12.2
BMC_{crt} (mg/cm ³)	87.1 \pm 15.4	119.8 \pm 13.3	68.3 \pm 10.6	112.3 \pm 13.2	89.1 \pm 13.9	108.3 \pm 17.3
BMC_{trab} (mg/cm ³)	59.5 \pm 3.8	74.4 \pm 4.6 *	66.9 \pm 4.8	71.8 \pm 2.1	68.4 \pm 5.5	76.1 \pm 4.4

Beim Metacarpus (Tabelle 8) stiegen über die Zeit bei der Gruppe der operierten Gliedmassen alle Werte, welche den Mineralstoffgehalt betrafen (BMC_{tot} , BMC_{crt} und BMC_{trab}), signifikant an, während bei den kontralateralen nicht operierten Gliedmassen nur der totale und der trabekuläre Mineralstoffgehalt (BMC_{tot} und BMC_{trab}) signifikante Zunahmen aufwiesen. In der Kontrollgruppe traten über die Zeit bei keinen Parametern signifikante Unterschiede auf. Beim Metacarpus bestanden zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 8: Mittelwerte der pQCT-Messungen \pm STE der distalen Epiphysenfuge des **Metacarpus** präoperativ und nach 22 Tagen: totale Knochendichte (BMD_{tot}), kortikale Knochendichte (BMD_{crt}), trabekuläre Knochendichte (BMD_{trab}), totaler Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}), kortikaler Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) und trabekulärer Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}).

* = signifikanter Unterschied (Signifikanzniveau = 0.05) zwischen Tag -1 und Tag 22.

Parameter	operierte Gliedmassen		kontralaterale Gliedm.		Kontrolle	
	d-1	d22	d-1	d22	d-1	d22
BMD_{tot} (mg/cm ³)	327.4 \pm 15.6	357.4 \pm 10.2	339.8 \pm 11.0	353.6 \pm 12.3	339.3 \pm 14.6	347.2 \pm 12.5
BMD_{crt} (mg/cm ³)	419.7 \pm 9.1	426.2 \pm 7.0	415.5 \pm 7.0	425.5 \pm 10.4	418.3 \pm 10.0	420.3 \pm 6.1
BMD_{trab} (mg/cm ³)	310.1 \pm 17.3	336.6 \pm 12.3 *	324.5 \pm 11.3	347.8 \pm 15.4 *	317.0 \pm 18.5	340.8 \pm 12.6
BMC_{tot} (mg/cm ³)	133.8 \pm 9.4	154.4 \pm 6.0 *	143.0 \pm 5.0	160.0 \pm 7.3 *	143.9 \pm 12.1	157.0 \pm 8.9
BMC_{crt} (mg/cm ³)	70.2 \pm 12.9	97.4 \pm 8.5 *	78.5 \pm 8.7	97.2 \pm 13.6	86.5 \pm 12.7	91.7 \pm 10.0
BMC_{trab} (mg/cm ³)	57.2 \pm 4.6	65.6 \pm 3.4 *	61.6 \pm 2.8	69.2 \pm 3.4 *	60.5 \pm 6.3	68.3 \pm 4.5

5.6.1. Messungen der Knochendichte (BMD) der Lämmer

5.6.1.1. Vergleich der totalen Knochendichten (BMD_{tot}) am Beispiel des Metatarsus

Die totalen Knochendichten in den Epiphysenfugen der distalen Metatarsi (siehe 4.3.1.) von operierten Gliedmassen (op), kontralateralen nicht operierten Gliedmassen derselben Tiere (kontralateral) sowie Gliedmassen von nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle) waren am Ende des Versuches generell höher als zu Versuchsbeginn (Abb. 39). In der op-Gruppe war ein signifikanter Anstieg ($p = 0.005$) über die Zeit zwischen Tag 6 ($319.4 \pm 8.5 \text{ mg/cm}^3$) und Tag 22 ($362.9 \pm 11.9 \text{ mg/cm}^3$) zu beobachten, während bei der kontralateralen Gruppe ein signifikanter Anstieg ($p = 0.007$) über die Zeit zwischen Tag 10 ($327.1 \pm 14.7 \text{ mg/cm}^3$) und Tag 22 ($356.7 \pm 11.5 \text{ mg/cm}^3$) auftrat. In der Kontrollgruppe wurde ein zeitlich signifikanter Anstieg ($p = 0.013$) zwischen Tag 18 ($334.9 \pm 17.7 \text{ mg/cm}^3$) und Tag 22 ($363.1 \pm 13.8 \text{ mg/cm}^3$) beobachtet. Der Gruppenvergleich der totalen Knochendichten (BMD_{tot}) am Metatarsus zeigte zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede.

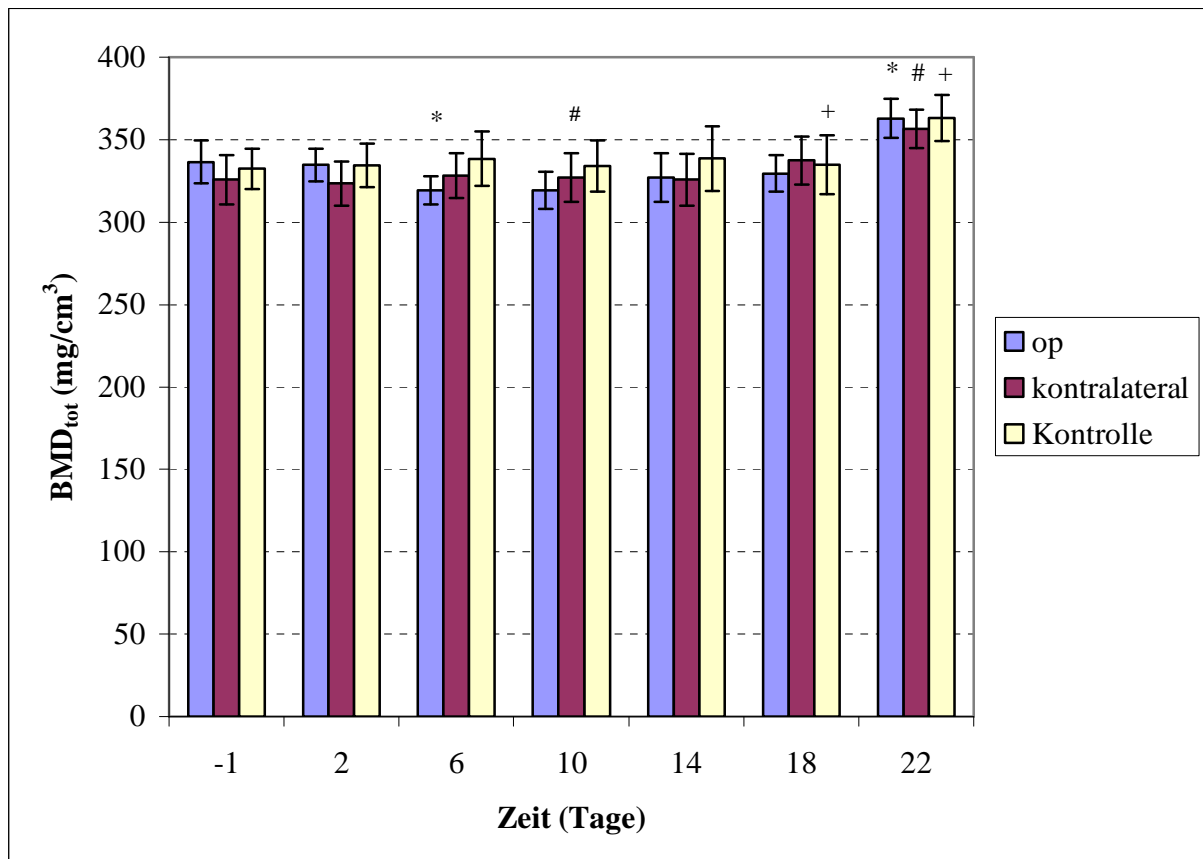


Abb. 39: Vergleich der Mittelwerte \pm STE der pQCT-Messungen der totalen Knochendichte (BMD_{tot}) von operierten Metatarsi (op), kontralateralen nicht operierten Metatarsi (kontralateral) sowie Metatarsi von nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle), gemessen auf Höhe der distalen Epiphysenfuge.

*: Zeitliche Signifikanz von Tag 6 zu Tag 22 der op-Gruppe ($p = 0.005$)

#: Zeitliche Signifikanz von Tag 10 zu Tag 22 der kontralateralen Gruppe ($p = 0.007$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 18 zu Tag 22 der Kontrollgruppe ($p = 0.013$)

5.6.1.2. Vergleich der kortikalen Knochendichten (BMD_{crt}) am Beispiel des Metatarsus

Der Vergleich der kortikalen Knochendichte (BMD_{crt}) in den Epiphysenfugen der distalen Metatarsi ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen (Abb. 40). Es liessen sich auch keine zeitlich signifikanten Zu- oder Abnahmen feststellen.

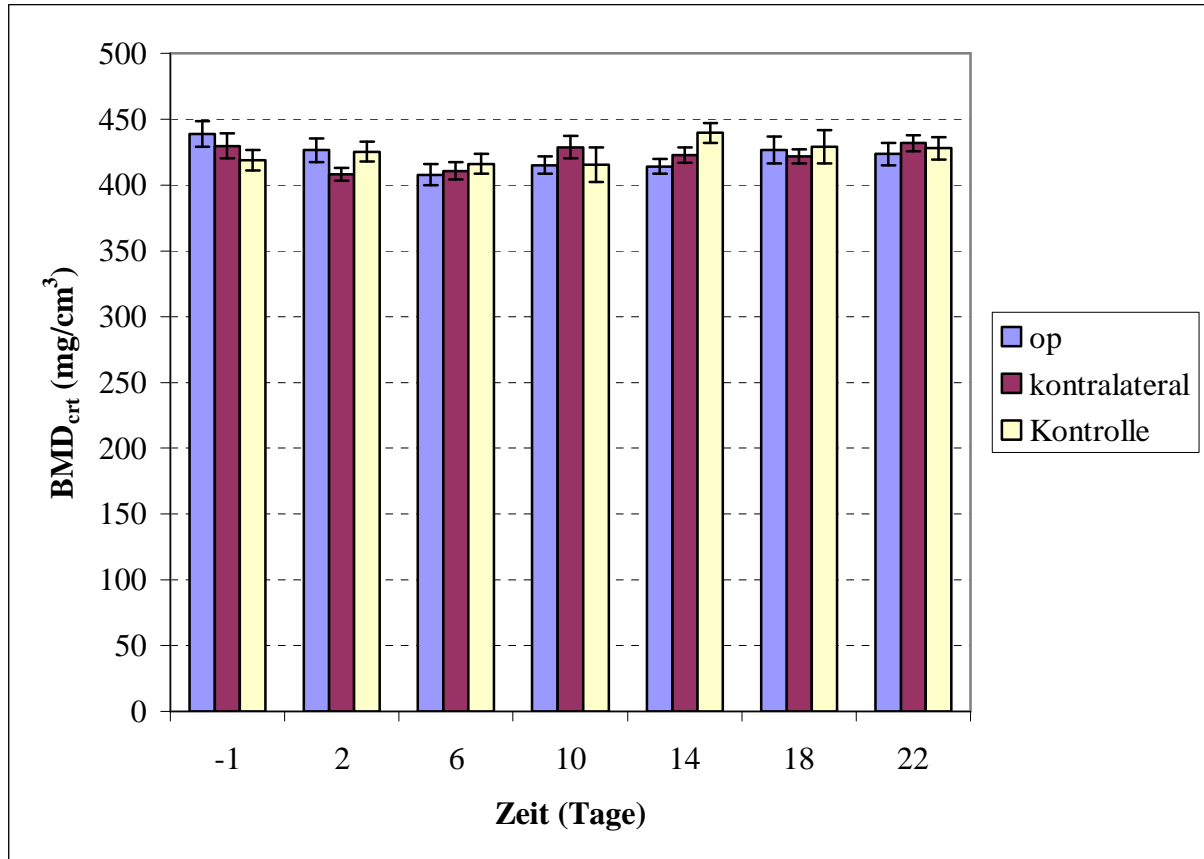


Abb. 40: Vergleich der Mittelwerte \pm STE der pQCT-Messungen der kortikalen Knochendichte (BMD_{crt}) von operierten Metatarsi (op), kontralateralen nicht operierten Metatarsi (kontralateral) sowie Metatarsi von nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle), gemessen auf Höhe der distalen Epiphysenfuge.

5.6.1.3. Vergleich der trabekulären Knochendichten (BMD_{trab}) am Beispiel des Metatarsus

Bei der op-Gruppe trat ein signifikanter Anstieg ($p = 0.007$) der trabekulären Knochendichte in den Epiphysenfugen der distalen Metatarsi zwischen Tag -1 ($291.2 \pm 20.2 \text{ mg/cm}^3$) und Tag 22 ($346.1 \pm 13.9 \text{ mg/cm}^3$) auf (Abb. 41). Auch bei der kontralateralen Gruppe fand sich ein signifikanter Anstieg ($p = 0.013$) zwischen Tag -1 ($283.0 \pm 18.1 \text{ mg/cm}^3$) und Tag 22 ($340.5 \pm 13.1 \text{ mg/cm}^3$). Die Kontrollgruppe erreichte zwischen Tag 18 ($304.2 \pm 18.5 \text{ mg/cm}^3$) und Tag 22 ($356.5 \pm 16.9 \text{ mg/cm}^3$) einen signifikanten Anstieg ($p = 0.007$). Obwohl sich die Werte der trabekulären Knochendichten zwischen den Gruppen zu Beginn des Versuchs deutlich unterschieden, konnten keine signifikanten Gruppenunterschiede gezeigt werden.

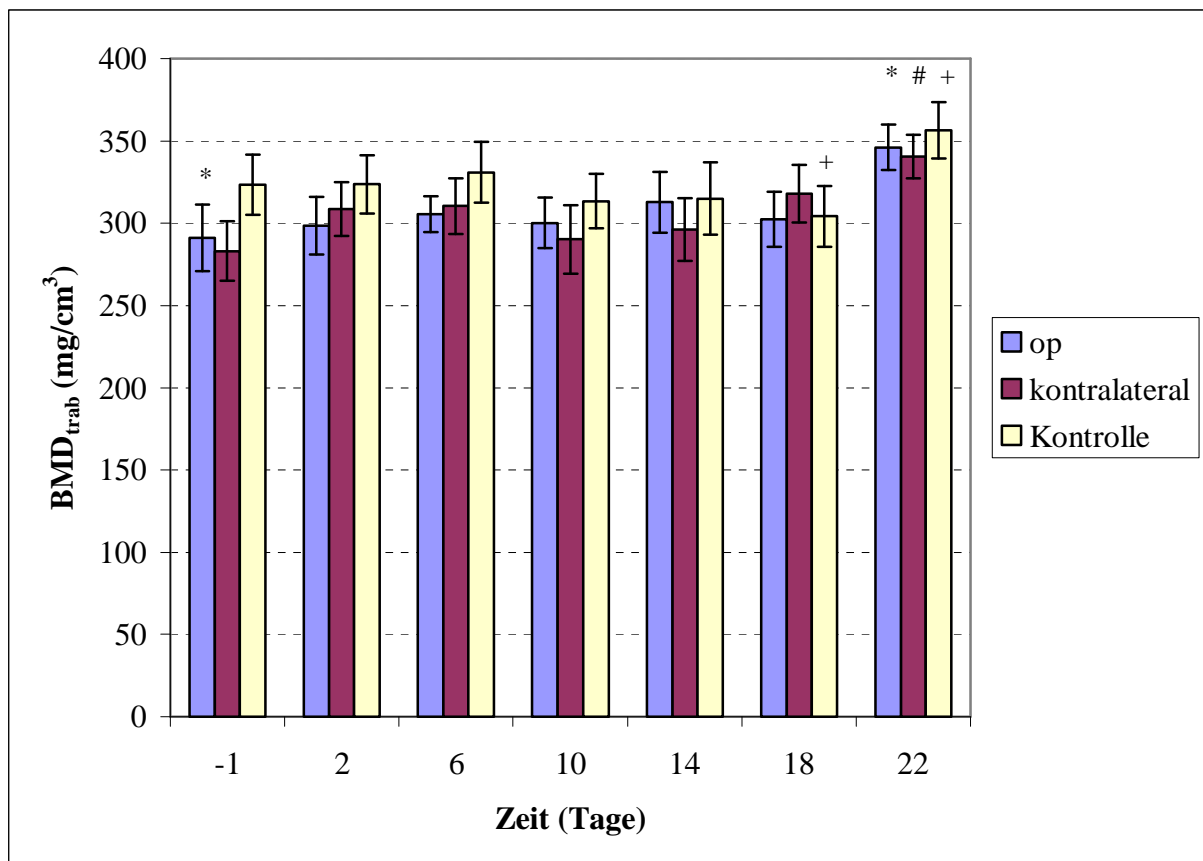


Abb. 41: Vergleich der Mittelwerte \pm STE der pQCT-Messungen der trabekulären Knochendichte (BMD_{trab}) von operierten Metatarsi (op), kontralateralen nicht operierten Metatarsi (kontralateral) sowie Metatarsi von nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle), gemessen auf Höhe der distalen Epiphysenfuge.

*: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 22 der op-Gruppe ($p = 0.007$)

#: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 22 der kontralateralen Gruppe ($p = 0.013$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 18 zu Tag 22 der Kontrollgruppe ($p = 0.007$)

5.6.2. Messungen des Mineralstoffgehaltes (BMC) der Lämmer

5.6.2.1. Vergleich des totalen Mineralstoffgehaltes (BMC_{tot}) am Beispiel des Metatarsus

Beim Vergleich des totalen Mineralstoffgehaltes in den Epiphysenfugen der distalen Metatarsi fand sich ein zeitlich signifikanter Anstieg ($p = 0.005$) bei der op-Gruppe zwischen Tag 6 (122.8 ± 5.3 mg/cm) und Tag 22 (147.7 ± 6.4 mg/cm), bei der kontralateralen Gruppe ($p = 0.037$) zwischen Tag 10 (124.3 ± 9.0 mg/cm) und Tag 22 (139.6 ± 8.4 mg/cm) und bei der Kontrollgruppe ($p = 0.013$) zwischen Tag 18 (126.7 ± 6.7 mg/cm) und Tag 22 (150.8 ± 7.7 mg/cm) (Abb. 42). Der totale Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}) zeigte zwischen den Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede.

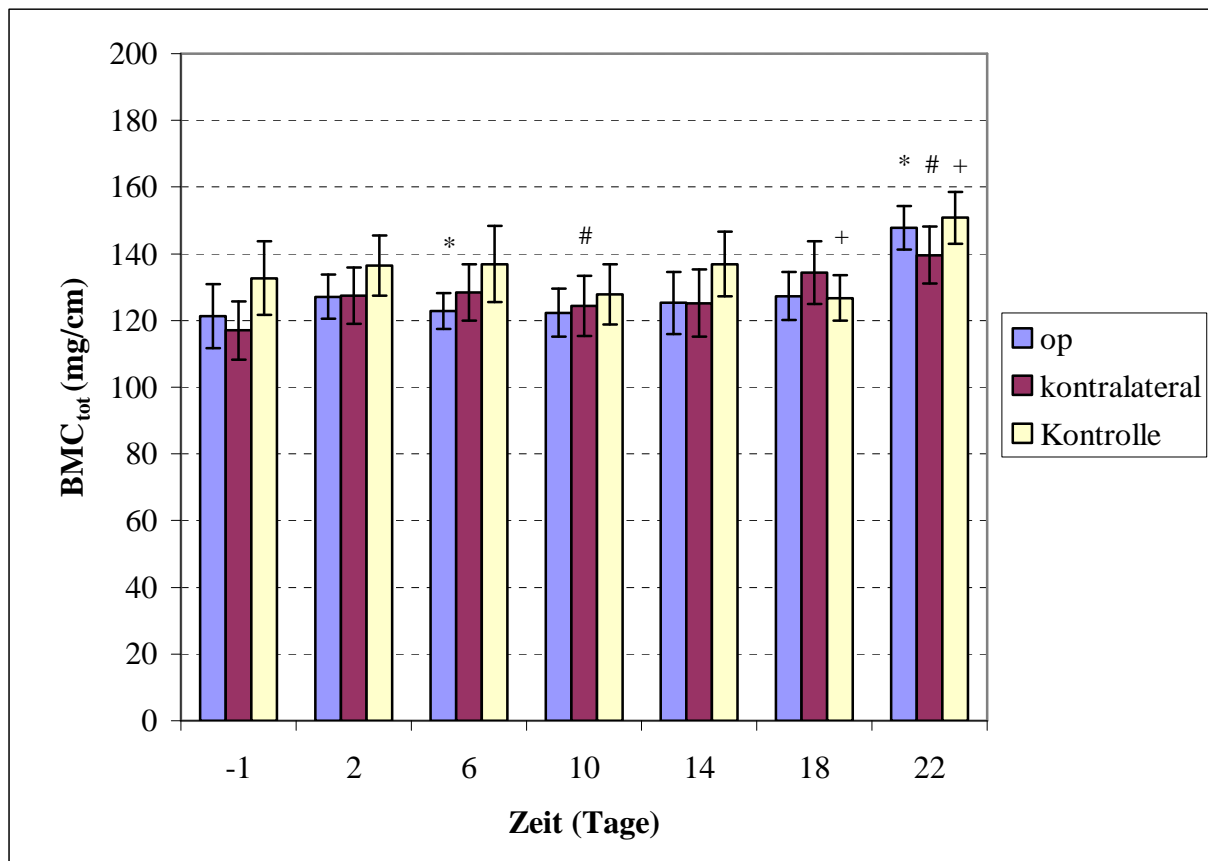


Abb. 42: Vergleich der Mittelwerte \pm STE der pQCT-Messungen des totalen Mineralstoffgehaltes (BMC_{tot}) von operierten Metatarsi (op), kontralateralen nicht operierten Metatarsi (kontralateral) sowie Metatarsi von nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle), gemessen auf Höhe der distalen Epiphysenfuge.

*: Zeitliche Signifikanz von Tag 6 zu Tag 22 der op-Gruppe ($p = 0.005$)

#: Zeitliche Signifikanz von Tag 10 zu Tag 22 der kontralateralen Gruppe ($p = 0.037$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 18 zu Tag 22 der Kontrollgruppe ($p = 0.013$)

5.6.2.2. Vergleich des kortikalen Mineralstoffgehaltes (BMC_{crt}) am Beispiel des Metatarsus

Die Werte des kortikalen Mineralstoffgehaltes in den Epiphysenfugen der distalen Metatarsi waren zu Versuchsbeginn signifikant tiefer als am Versuchsende (Abb. 43). In der op-Gruppe trat ein signifikanter Anstieg ($p = 0.005$) über die Zeit zwischen Tag 6 (55.8 ± 5.3 mg/cm) und Tag 22 (91.6 ± 11.1 mg/cm) auf. Die kontralaterale Gruppe zeigte einen zeitlich signifikanten Anstieg ($p = 0.037$) zwischen Tag -1 (58.5 ± 9.6 mg/cm) und Tag 22 (86.3 ± 8.7 mg/cm), während die Kontrollgruppe einen signifikanten Anstieg ($p = 0.017$) zwischen Tag 10 (66.3 ± 10.3 mg/cm) und Tag 22 (90.4 ± 10.6 mg/cm) aufwies. Der kortikale Mineralstoffgehalt zeigte im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede.

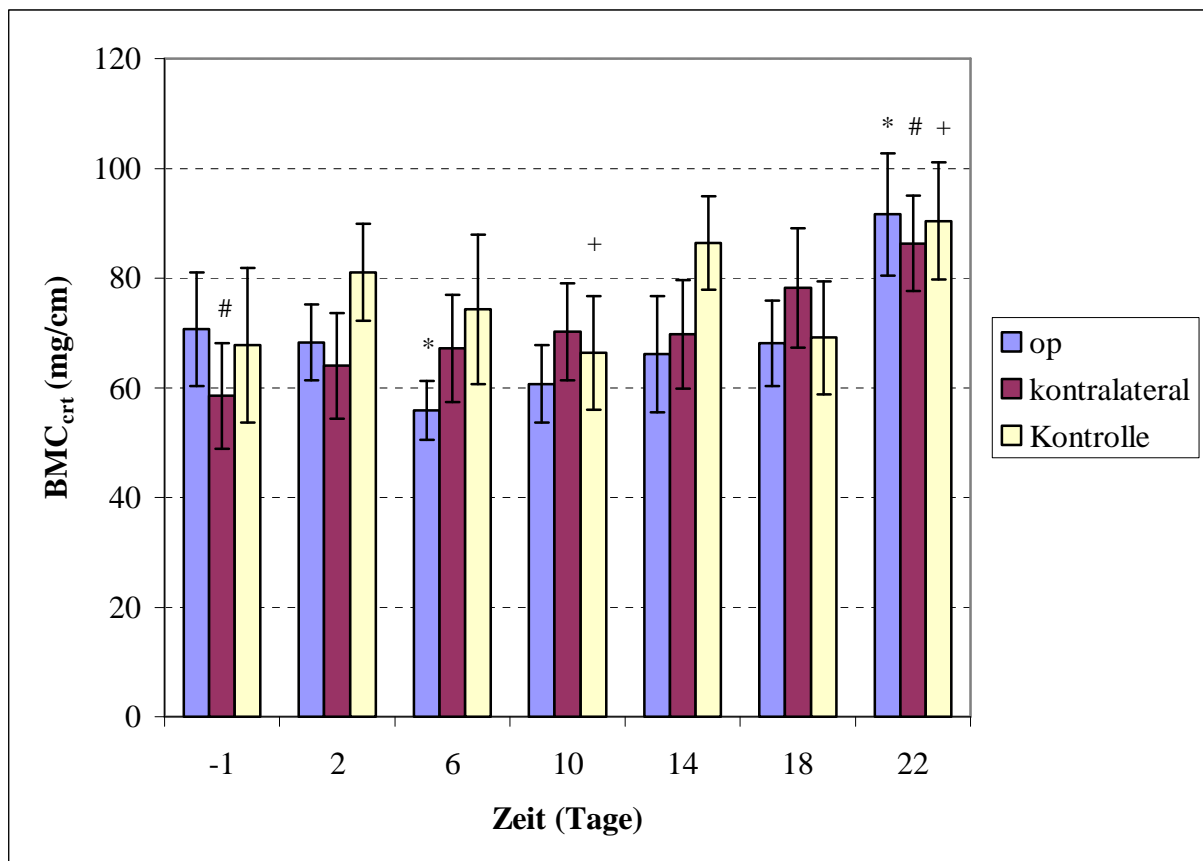


Abb. 43: Vergleich der Mittelwerte \pm STE der pQCT-Messungen des kortikalen Mineralstoffgehaltes (BMC_{crt}) von operierten Metatarsi (op), kontralateralen nicht operierten Metatarsi (kontralateral) sowie Metatarsi von nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle), gemessen auf Höhe der distalen Epiphysenfuge.

*: Zeitliche Signifikanz von Tag 6 zu Tag 22 der op-Gruppe ($p = 0.005$)

#: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 22 der kontralateralen Gruppe ($p = 0.037$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 10 zu Tag 22 der Kontrollgruppe ($p = 0.017$)

5.6.2.3. Vergleich des trabekulären Mineralstoffgehaltes (BMC_{trab}) am Beispiel des Metatarsus

Wie die Werte der trabekulären Knochendichte zeigten auch die Werte des trabekulären Mineralstoffgehaltes in den Epiphysenfugen der distalen Metatarsi zu Beginn des Versuchs deutliche, jedoch nicht signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (Abb. 44). In allen drei Gruppen war über die Zeit eine signifikante Zunahme des BMC_{trab} zu beobachten. In der op-Gruppe erschien die Signifikanz ($p = 0.005$) zwischen Tag -1 (49.8 ± 4.9 mg/cm) und Tag 22 (63.4 ± 3.2 mg/cm), in der kontralateralen Gruppe ($p = 0.047$) ebenfalls zwischen Tag -1 (47.5 ± 4.5 mg/cm) und Tag 22 (60.0 ± 4.0 mg/cm) und in der Kontrollgruppe ($p = 0.009$) zwischen Tag 10 (55.2 ± 4.6 mg/cm) und Tag 22 (66.3 ± 3.7 mg/cm).

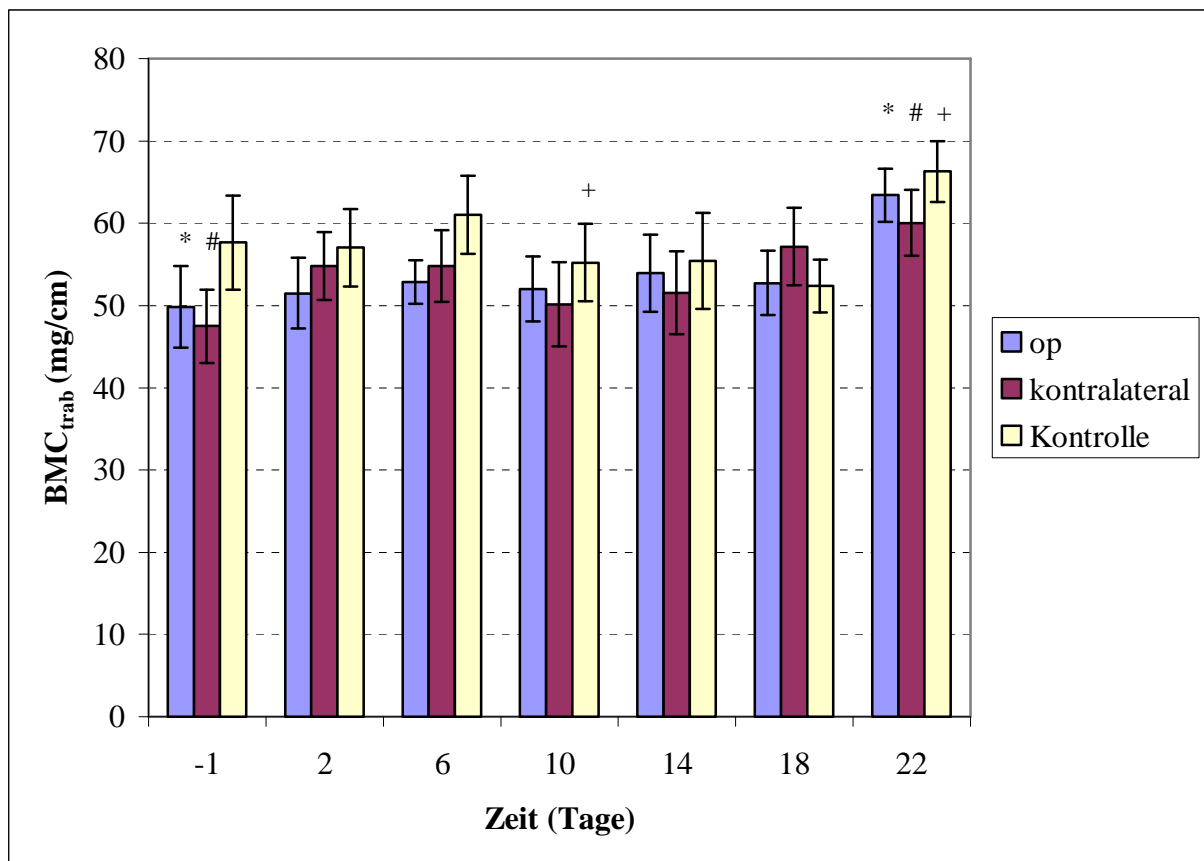


Abb. 44: Vergleich der Mittelwerte \pm STE der pQCT-Messungen des trabekulären Mineralstoffgehaltes (BMC_{trab}) von operierten Metatarsi (op), kontralateralen nicht operierten Metatarsi (kontralateral) sowie Metatarsi von nicht operierten Kontrolltieren (Kontrolle), gemessen auf Höhe der distalen Epiphysenfuge.

*: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 22 der op-Gruppe ($p = 0.005$)

#: Zeitliche Signifikanz von Tag -1 zu Tag 22 der kontralateralen Gruppe ($p = 0.047$)

+: Zeitliche Signifikanz von Tag 10 zu Tag 22 der Kontrollgruppe ($p = 0.009$)

5.6.3. Korrelation von BMC und BMD

5.6.3.1. Korrelation von BMC_{tot} und BMD_{tot} des Metatarsus

Die Korrelation zwischen BMC_{tot} und BMD_{tot} verlief positiv (Abb. 45). Je höher die Werte des totalen Mineralstoffgehaltes in den Metatarsi ausfielen, desto höher war auch die totale Knochendichte. Abgesehen von wenigen Ausreißern lagen die Werte nahe beieinander, was zu einer deutlichen Korrelation von $R^2 = 0.44$ führte.

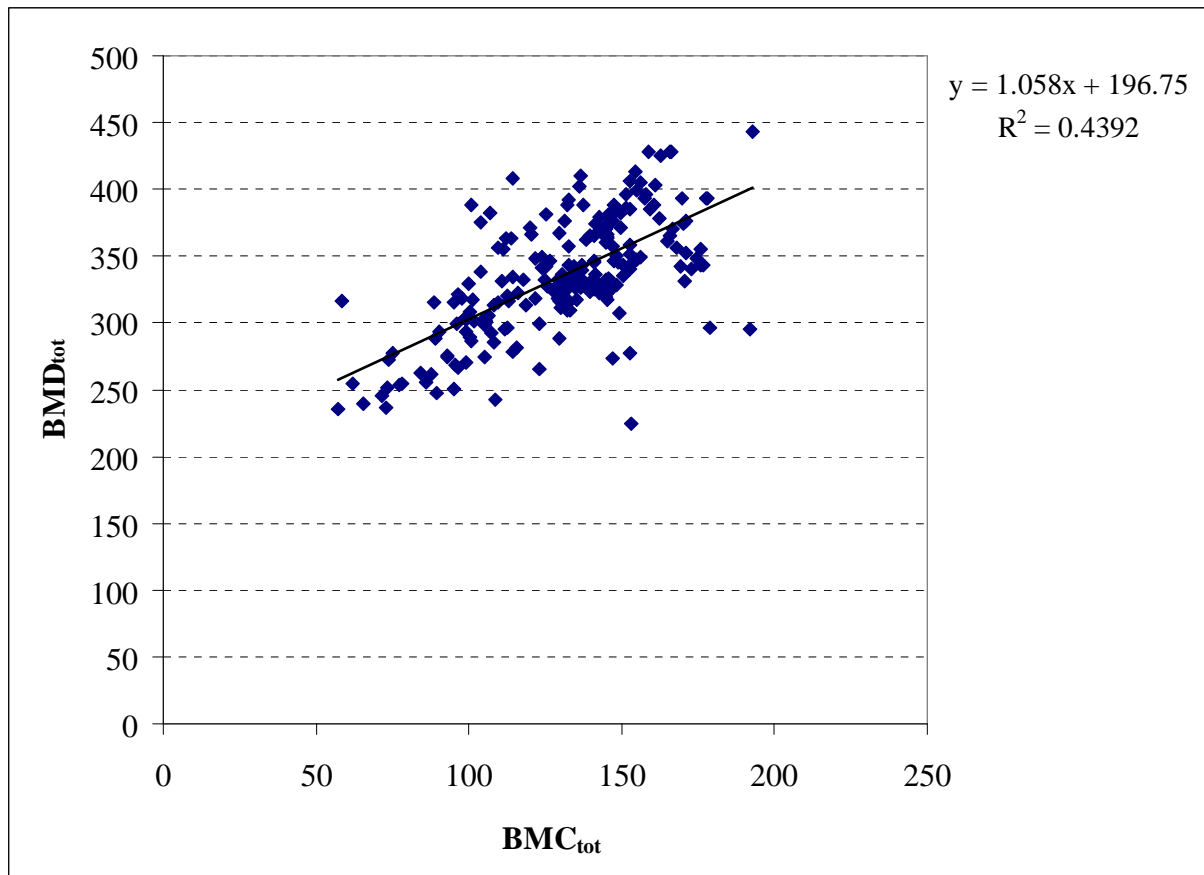


Abb. 45: Korrelation mit Regressionsanalyse von totalem Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}) und totaler Knochendichte (BMD_{tot}) der Metatarsi, gemessen in der distalen Epiphysenfuge. $R^2 = 0.44$, $p \leq 0.001$

5.6.3.2. Korrelation von BMC_{crt} und BMD_{crt} des Metatarsus

Auch die Korrelation von kortikalem Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) und kortikaler Knochendichte (BMD_{crt}) in den Metatarsi verlief positiv. Je höher die Werte des kortikalen Mineralstoffgehaltes ausfielen, desto höher war auch die kortikale Knochendichte. Während die Werte der BMD_{crt} abgesehen von wenigen Ausreißern relativ eng beieinander lagen, waren die Werte des BMC_{crt} weit gestreut, was zu einer schwachen Korrelation von $R^2 = 0.18$ führte.

5.6.3.3. Korrelation von BMC_{trab} und BMD_{trab} des Metatarsus

Die Korrelation von trabekulärem Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}) und trabekulärer Knochendichte (BMD_{trab}) verlief positiv (Abb. 46). Je höher der trabekuläre Mineralgehalt ausfiel, desto dichter war der trabekuläre Knochen. Die Einzelwerte lagen alle nahe der Regressionsgerade, was eine deutliche Korrelation von $R^2 = 0.76$ ermöglichte.

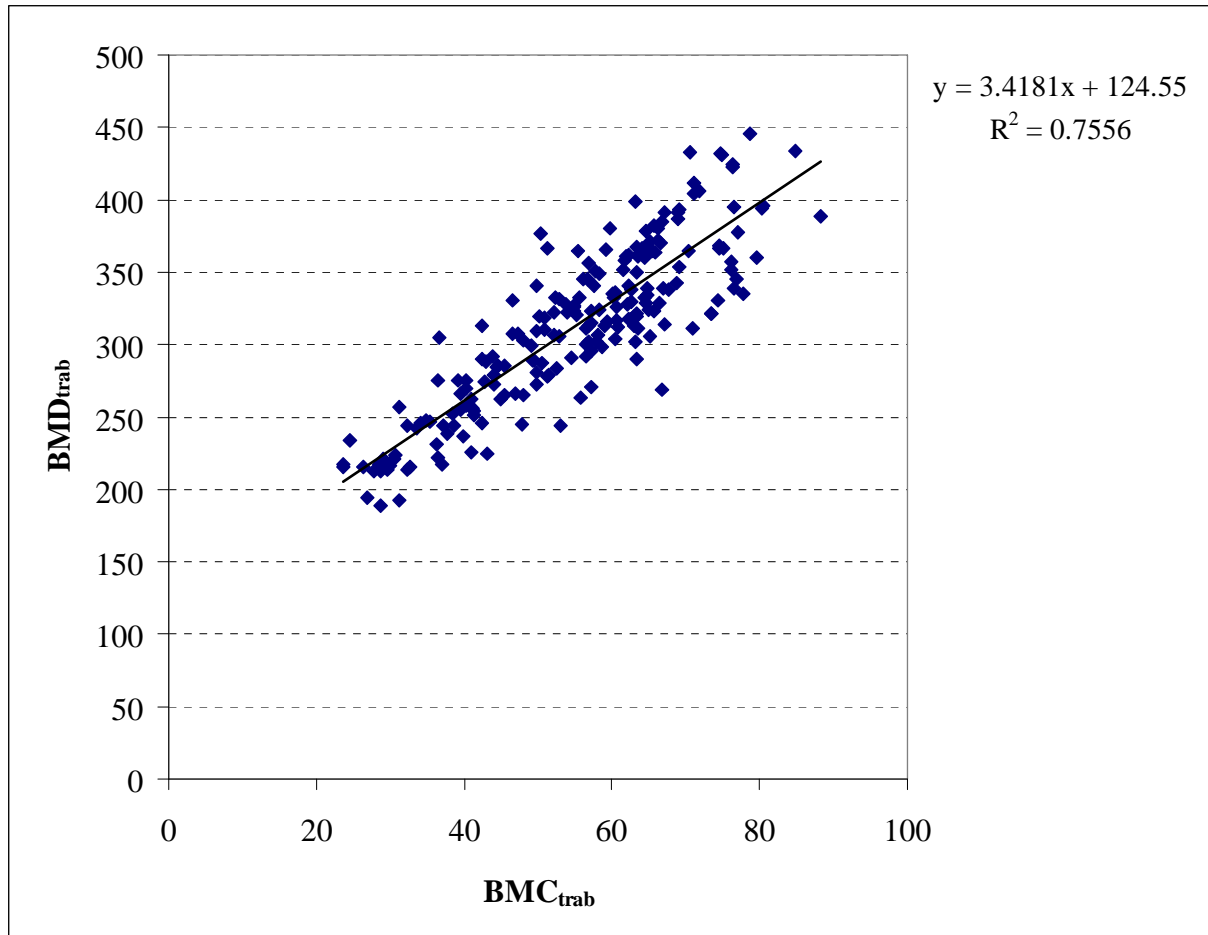


Abb. 46: Korrelation mit Regressionsanalyse von trabekulärem Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}) und trabekulärer Knochendichte (BMD_{trab}) der distalen Metatarsi, gemessen in der distalen Epiphysenfuge. $R^2 = 0.76$, $p \leq 0.001$

5.7. Immunhistochemie der Lämmerknochen

Die operierten Knochen von zwei operierten Tieren wurden immunhistochemisch untersucht (siehe 4.8.). Dabei wurde die Epiphysenfuge in sechs Zonen von lateral nach medial unterteilt (siehe Abb. 17) und die Anfärbung der Zellen beurteilt. Ausgewertet wurde der Anteil der angefärbten Zellen bezüglich der gesamten Zellzahl sowie die Lokalisation der angefärbten Zellen bezüglich der Zonen (Ruhezzone, proliferative Zone, hypertrophe Zone). Bei den untersuchten Signalmolekülen Ihh, PTHrP, FGF-2 und TGF- β in den Zonen 1-6 der Epiphysenfuge (siehe Abb. 17) waren unterschiedliche Farbintensitäten zu beobachten. Tendenziell waren auf der lateralen, operierten Seite deutlich mehr angefärbte Zellen zu erkennen als auf der medialen, nicht operierten Seite des Knochens. Die intensivste Anfärbung wurde bei allen untersuchten Signalmolekülen in der proliferativen sowie in der hypertrophen Zone der Epiphysenfuge gefunden. Unterschiede bestanden auch zwischen den einzelnen Knochen. So wurden beim Ihh in der Epiphysenfuge der Tibia deutlich mehr angefärbte Zellen detektiert als in der Epiphysenfuge des Metatarsus desselben Tieres.

Der Vergleich der operierten Knochen zweier operierter Tiere kann nur eine erste Tendenz zeigen, lässt jedoch noch keine allgemeinen Rückschlüsse zu. Interessant wird es sein, operierte und nicht operierte Knochen desselben Tieres zu vergleichen und deren unterschiedlichen Anfärbungen zu interpretieren (Publikation in Vorbereitung).

Zur Illustration werden zwei Bilder mit unterschiedlicher Ihh-Expression in den hypertrophen Chondrozyten dargestellt. Abb. 47 zeigt das Präparat der distalen Epiphysenfuge des Radius eines operierten Lammes, dessen hypertrophe Chondrozyten eine intensiv rote Färbung aufweisen. Dies ist ein Hinweis auf eine erhöhte Ihh-Expression in dieser Zone. Abb. 48 zeigt die entsprechende Lokalisation eines anderen Tieres. Die hypertrophen Chondrozyten zeigen gegenüber der Umgebung keine intensivere Färbung, was auf eine nicht erhöhte Ihh-Expression in diesen Zellen schliessen lässt.

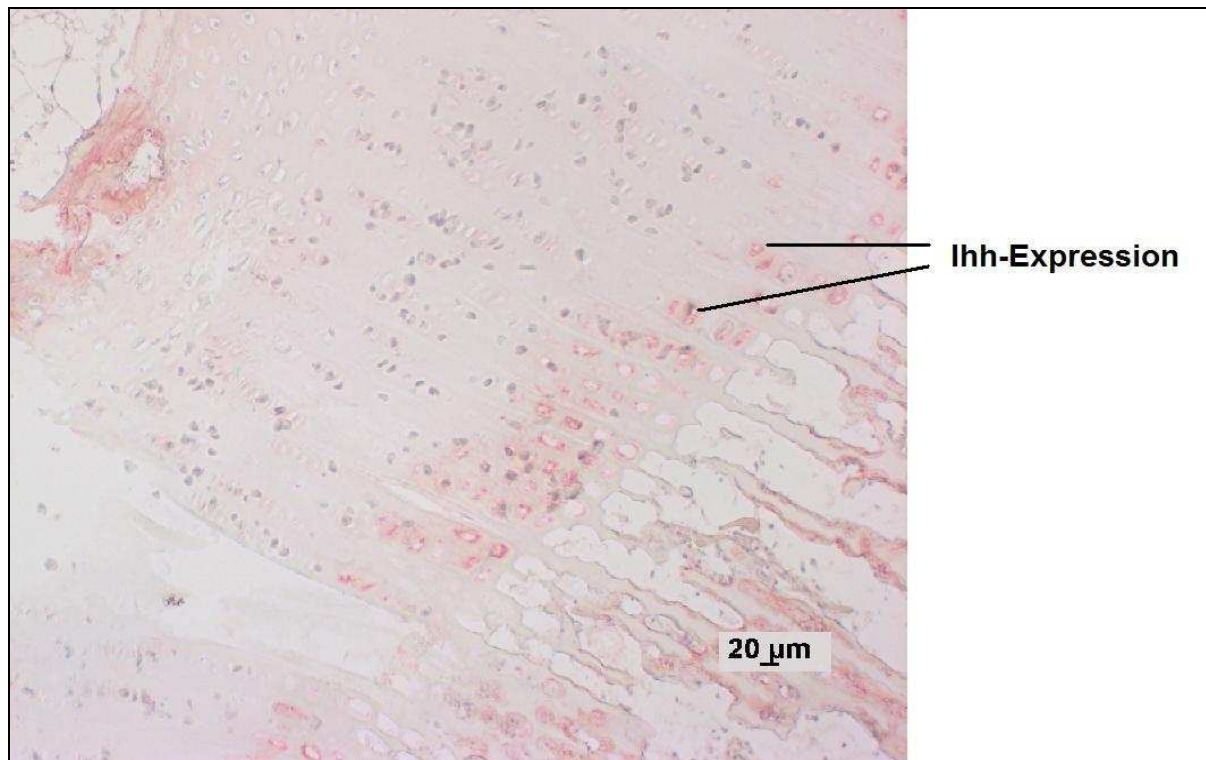


Abb. 47: Frontaler Schnitt durch die Epiphysenfuge eines Radius. Immunhistochemische Darstellung der Indian hedgehog (Ihh)-Expression (rot) in den hypertrophen Chondrozyten. HE 100x.

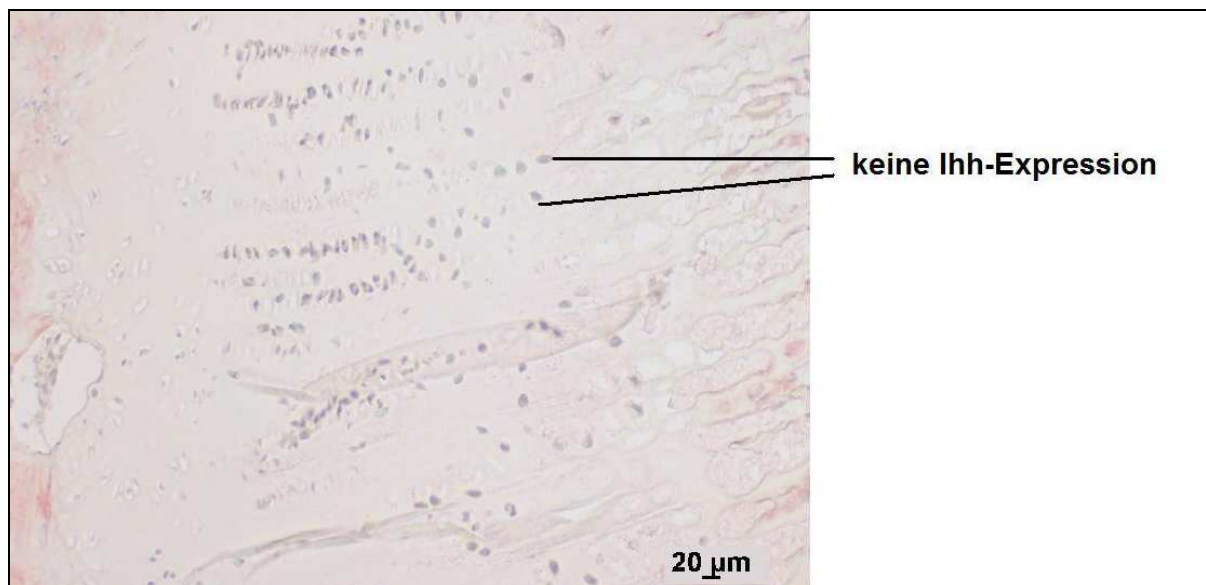


Abb. 48: Frontaler Schnitt durch die Epiphysenfuge eines Radius. Im Vergleich zu Abb. 47 ist keine Indian hedgehog (Ihh)-Expression (rot) in den hypertrophen Chondrozyten zu finden. HE 100x.

6. Diskussion

Auer und Martens (1982) beschrieben die Methode des "Hemicircumferential transection of the periosteum and periosteal stripping" (HCTP and PS) bei Fohlen bereits vor über 20 Jahren. Seither wurden Fohlen mit Achsenfehlstellungen erfolgreich mittels "HCTP and PS" therapiert. Die Auswirkungen von HCTP und PS beschrieben Auer und von Rechenberg (2006). Sie vermuteten, dass es vor allem lokale Wachstumsstellen an der operierten Stelle sind, welche für das beschleunigte Wachstum und damit die Korrektur der Achsenfehlstellung verantwortlich sind. Die Tatsache, dass die Effizienz der Methode des "HCTP and PS" bei Fohlen in jüngerer Zeit scharf kritisiert wurde, führte zu dieser Untersuchung. Ziel dieser Arbeit war es, anhand eines Modellversuches an Lämmern allfällige Auswirkungen von "Periost stripping" auf den nativen Vitamin D-Spiegel, auf die Konzentrationen von Knochen- und Knorpelmarkern sowie auf die Knochendichte und den Mineralstoffgehalt zu untersuchen. Ausserdem sollte das Vorkommen lokaler Wachstumsfaktoren mittels Immunhistochemie detektiert und somit ein erhöhtes Knochenwachstum nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden Blutproben von Fohlen mit und ohne Achsenfehlstellungen entnommen, um die Auswirkungen des "Periost stripping" auf die Konzentrationen von nativem Vitamin D sowie Knochen- und Knorpelmarkern sowohl von gesunden, als auch von fehlgestellten Fohlen aufzuzeigen.

Slone et al. (2000) postulierten, dass Achsenfehlstellungen, welche durch ein unterschiedliches Längenwachstum innerhalb langer Röhrenknochen verursacht wurden, auch ohne chirurgische Intervention korrigiert werden könnten. In einer Studie wurden die Radii von Warmblutfohlen mit Achsenfehlstellungen unilateral mit "HCTP and PS" behandelt und anschliessend mittels wiederholter Röntgenaufnahmen bezüglich Achsenabweichung beurteilt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Achsenabweichungen operierter und nicht operierter Gliedmassen festgestellt werden. Deshalb empfehlen diese Autoren als einzige Massnahme Stallruhe und erreichen damit in fast allen Fällen ihrer Praxis eine Korrektur der Achsenfehlstellung. In einer ähnlichen Studie erzeugten Read et al. (2001) mittels "transphyseal bridging" eine Achsenabweichung an den lateralen distalen Radii. Anschliessend operierten sie jeweils einen Radius mittels "HCTP and PS", während der kontralaterale Radius als Kontrolle diente. Im Verlaufe der Zeit konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Achsenabweichungen operierter und nicht operierter Gliedmassen festgestellt werden. Allerdings weisen Read et al. (2002) darauf hin, dass die Verwendung von Fohlen mit experimentell induzierten Achsenfehlstellungen problematisch ist. Die Autoren erachten es als unumgänglich, dass bei der Erforschung der Wirksamkeit von "HCTP

and PS" nur Fohlen mit natürlich auftretenden Achsenfehlstellungen für Studien verwendet sollten.

Für die vorliegende Untersuchung standen nur wenige Fohlen mit natürlich vorkommenden Achsenfehlstellungen zur Verfügung. Zusätzlich wurden Lämmer als Modell verwendet. Die Verwendung von Modelltieren birgt Vor- und Nachteile. Vorteil in dieser Studie war, dass eine definierte Anzahl von Lämmern zur Verfügung stand, welche am Ende der Studie auch für die immunhistochemischen Untersuchungen verwendet werden konnten. Lämmer belasten wie Fohlen nach chirurgischen Eingriffen ihre Extremitäten sofort wieder und eignen sich daher gut für solche Untersuchungen (Nunamaker, 1998). Nachteil der Verwendung von Lämmern als Modelltiere war, dass diese keine natürlichen Achsenfehlstellungen aufwiesen. Es stellte sich die Frage, ob sie trotzdem als Modell für Tiere mit Achsenfehlstellungen dienen können, oder ob fehlgestellte Tiere andere Nullwerte bezüglich Knochen- und Knorpelmarker, Knochendichte und -mineralgehalt aufweisen. Möglicherweise wäre es sinnvoll, in zukünftigen Untersuchungen die Lämmer zuerst mittels "transphyseal bridging" fehlzustellen, um sie dann mittels "HCTP and PS" zu operieren. Ein weiterer Nachteil der Verwendung von Lämmern als Modelltiere war, dass in der Literatur keine Angaben über den Vergleich des Knochenstoffwechsel von Fohlen und Lämmern zu finden waren.

Knochen- und Knorpelmarker

Die in dieser Studie verwendeten Fohlen, welche eine Achsenfehlstellung aufwiesen, unterschieden sich bezüglich Knochen- und Knorpelmarker nicht signifikant von den gesunden Fohlen. Bei der Untersuchungen von Fohlen mit Osteochondrose stellten Vervuert et al. (2007) fest, dass sich die Knochenaufbaumarkerkonzentrationen von natürlich betroffenen Tieren nicht signifikant von OC-Konzentrationen gesunder Tiere ohne Osteochondrose unterschieden. Billingham et al. (2004) hingegen konnten zeigen, dass bei Fohlen im ersten Lebensjahr ein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Osteochondrose und der Konzentration verschiedener Knochenmarker bestand. Ob ein Vergleich der Knochenmarkerkonzentrationen von Fohlen mit Osteochondrose und den in dieser Studie verwendeten Fohlen mit Achsenfehlstellungen sinnvoll ist, ist fraglich, da Osteochondrose-Läsionen meist nicht in den ersten Lebensmonaten diagnostiziert werden können und diese damit eine spätere Phase der Knochenreifung repräsentieren, welche durch tiefere Knochenmarker-Konzentrationen charakterisiert ist.

Bei Hunden konnten Lavigne et al. (2005) zeigen, dass bei Tieren mit experimentell induzierter Knieosteoarthrose die OC-Konzentrationen in Gewebeproben acht Wochen nach

dem operativen Eingriff signifikant erhöht waren. Arican et al. (1996) untersuchten die OC-Konzentrationen im Serum von Hunden mit natürlich aufgetretenen Knieproblemen und fanden signifikant erhöhte Werte bei Hunden mit Osteoarthritis, rheumatoider Arthritis und Rupturen des kranialen Kreuzbandes. Allerdings waren die Tiere beider oben erwähnter Studien älter und deshalb nur bedingt mit den jungen Fohlen und Lämmern dieser Studie vergleichbar.

In der Humanmedizin wurde in verschiedenen Studien der Zusammenhang zwischen Kniearthrose und Knochenmarkern untersucht (Davis et al., 2007; Hunter et al., 2008). Garnero et al. (2001b) stellten bei Patienten mit Osteoarthritis in den Knien tiefere Konzentrationen von OC und CTX-I, verglichen mit gesunden Individuen, fest. Auch zwischen dem Schweregrad von Kniearthrosen und dem Knorpelmarker CTX-II scheint ein Zusammenhang zu bestehen. Garnero et al. (2005) fanden bei Patienten mit schmerzhaften Kniearthrosen signifikant höhere CTX-II-Konzentrationen im Urin als bei Individuen ohne Kniebeschwerden.

In der vorliegenden Studie konnten bei den Lämmern nach der Operation keine veränderten Knochenmarker-Konzentrationen festgestellt werden. Allerdings handelte es sich hier nur um einen lokalen Eingriff an der Knochenhaut nichtartikulärer Knochen und nicht um einen Eingriff, der die Gelenke der Lämmer betraf. Diese Erklärung könnte auch auf die Fohlen zutreffen. Obwohl es sich bei der Gruppe der operierten Fohlen um Fohlen mit natürlich auftretenden Achsenfehlstellungen handelte, konnten nach der Operation keine signifikanten Veränderungen der Knochenmarker-Konzentrationen im Vergleich zu den nicht operierten Kontrolltieren festgestellt werden. Möglicherweise war der Eingriff an der Knochenhaut zu minimal, um den gesamten Knochenstoffwechsel der Fohlen zu beeinflussen. Es wäre denkbar, dass die Auswirkungen des Eingriffs lediglich lokal sichtbar sind, hingegen keine systemischen Veränderungen bewirken. Ausserdem wäre es möglich, dass sich die Veränderungen bezüglich Knochenmarker-Konzentrationen erst im Verlauf der Zeit manifestieren. In dieser Studie wurden die Knochen- und Knorpelmarker-Konzentrationen 10 und 21 oder 22 Tage nach der Operation bestimmt. Darüber, wie sich diese aber über einen längeren Zeitpunkt, über Monate oder Jahre, verändern, kann hier keine Aussage gemacht werden. Auch wäre es durchaus möglich, dass der Eingriff an der Knochenhaut der Fohlen im Alter einen Einfluss auf die Osteoarthrosebildung haben könnte.

Grundsätzlich zeigten die Knochenmarker-Konzentrationen über die gesamte Messperiode, in der die Fohlen ein Alter von 3 bis 6 Wochen, die Lämmer ein Alter von 9 bis 12 Wochen aufwiesen, sinkende Tendenzen. Diese Beobachtung, dass die Konzentrationen der

Knochenmarker nach der Geburt maximal und mit zunehmendem Alter rückläufig sind, machten auch Price et al. (2001) sowie Vervuert et al. (2007) bei Fohlen. In einer Studie mit wachsenden Vollblutpferden stellten Price et al. (2001) fest, dass die Knochenmarker-Konzentrationen zwischen Geburt und dem Alter von 18 Monaten signifikant absanken. Den stärksten Abfall beobachteten sie im Alter zwischen 0 und 6 Monaten. Hüttenmoser (2006) stellte bei wachsenden Lämmern ebenfalls negative Korrelationen zwischen Alter und Knochenmarker-Konzentrationen fest. Allen et al. (1998) untersuchten den Verlauf der Knochenmarker bei Beagle-Hunden unterschiedlichen Alters und fanden die höchsten Konzentrationen bei Hunden unter einem Jahr, gefolgt von Hunden zwischen einem und zwei Jahren, von drei bis sieben Jahren und Hunden über acht Jahre.

Blutwerte

Unter physiologischen Bedingungen hat **1,25(OH)₂Vitamin D** wahrscheinlich nur eine geringe Wirkung am Knochen, bewirkt aber die Bereitstellung von Ca und P für den Mineralisierungsprozess durch eine gesteigerte intestinale Resorption (Erben, 2000; Ballock und O'Keefe 2003). Bei der Operation mittels "Periost stripping" wurde an den operierten Stellen ein gesteigertes Knochenwachstum und damit eine gesteigerte Mineralisierung des Knochens erwartet. Allerdings konnten bezüglich der Konzentration von 1,25(OH)₂VitD im Serum keine signifikanten Unterschiede zwischen operierten und nicht operierten Lämmern festgestellt werden. Möglicherweise waren die zur gesteigerten Mineralisation notwendigen zusätzlichen Mengen an Ca und P zu gering, um die 1,25(OH)₂VitD-PTH-Homöostase so zu ändern, dass erhöhte Konzentrationen gemessen werden konnten. Bei den Lämmern zeigten beide Gruppen über die Zeit sinkende 1,25(OH)₂VitD-Konzentrationen, was bei wachsenden Schafen auch in einer Untersuchung von Hüttenmoser (2006) sowie einer Studie von Chanetsa et al. (2000) beschrieben wurde.

Bei den Fohlen bestand zu Versuchsbeginn ein nicht signifikanter Unterschied zwischen den 1,25(OH)₂VitD-Konzentrationen von fehlgestellten und gesunden Tieren, indem die fehlgestellten Fohlen deutlich tiefere 1,25(OH)₂VitD-Konzentrationen im Serum aufwiesen als die gesunden Tiere. Bis zum Versuchsende hatten sich die 1,25(OH)₂VitD-Konzentrationen der beiden Gruppen aber wieder angeglichen. Die tieferen 1,25(OH)₂VitD-Konzentrationen der fehlgestellten Tiere könnten damit begründet sein, dass zu wenig Ca und P für eine genügende Mineralisierung in den betroffenen Epiphysenfugen vorhanden war und das Wachstum an diesen Stellen deshalb vermindert war. Allerdings war dies nur in einzelnen

Epiphysenfugen der Fall, und es konnten ansonsten keine Hinweise auf ungenügende Knochenmineralisierung gefunden werden.

Osteocalcin wird von Osteoblasten produziert, ist also ein typischer Knochenaufbaumarker. Bei den Fohlen bestand zu Versuchsbeginn ein deutlicher, wenn auch nicht signifikanter Unterschied zwischen den Fohlen mit Achsenfehlstellungen und den gesunden Kontrolltieren. Während die operierten Tiere, deren Anfangskonzentrationen deutlich tiefer waren als jene der Kontrolltiere, langsam ansteigende OC-Konzentrationen zeigten, sanken die Werte der Kontrolltiere deutlich ab. Am Versuchsende waren die Konzentrationen beider Gruppen etwa gleich hoch. Es ist also durchaus möglich, dass die Operation eine Erhöhung der Anzahl der Osteoblasten bewirkt und damit mehr OC gebildet wird. Dass die OC-Werte bei Fohlen mit zunehmendem Alter absinken, ist auch aus Studien von Lepage et al. (1990) sowie Vervuert et al. (2007) ersichtlich. Davicco et al. (1994) untersuchten Selle Français-Fohlen in den ersten fünf Lebensmonaten und fanden in den ersten acht Lebenstagen ansteigende, bis zum Alter von fünf Monaten dann aber absinkende OC-Konzentrationen im Serum.

Bei den Lämmern bestand zwischen den beiden Gruppen zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied bezüglich der Osteocalcin-Konzentrationen im Serum. Generell sanken die Werte im Verlaufe der Zeit, was auch Pastoureau et al. (1991) und Hüttenmoser (2006) in ihren Untersuchungen bei wachsenden Lämmern beschrieben.

Bei den Lämmern war der Verlauf der Konzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ und Osteocalcin sinkend. Dies passt gut zur Theorie, dass die Bildung von Osteocalcin von $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ abhängig ist (Price und Baukol (1980); Risteli und Risteli (1993); Schönau und Rauch (1997)), indem $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ zu einem gesteigerten Mineralisierungsprozess und damit zu vermehrter Osteoblastenaktivität mit erhöhter OC-Bildung führt. Untersuchungen bei Kühen von Chiappi (2003) sowie von Loch (2004) bei Zuchtsauen zeigen ebenfalls einen parallelen Verlauf von $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ und Osteocalcin im Serum.

Der Aktivität eines weiteren untersuchten Knochenaufbaumarkers, der **knochenspezifischen alkalischen Phosphatase**, sank bei den Fohlen während der Versuchsdauer in beiden Gruppen. Eine sinkende bAP-Aktivität konnten auch Hank et al. (1993) bei wachsenden Fohlen beobachten. Bei den Lämmern sanken die Werte bei den nicht operierten Kontrolltieren kontinuierlich, bei den operierten Tieren stiegen sie vom 6. Tag an kontinuierlich an und erreichten am Tag 22 eine nicht signifikant höhere Konzentration als präoperativ. Dieser Anstieg bei den operierten Lämmern ist schwer interpretierbar.

Möglicherweise wurden durch die Operation die Osteoblasten zu vermehrter bAP-Bildung angeregt. Warum diese Reaktion bei den Fohlen nicht eintrat, ist unklar. Vielleicht reagiert die Knochenhaut der Lämmer sensibler auf den operativen Eingriff als diejenige der Fohlen. Ausserdem könnte der Eingriff bei den Lämmern, die gewichtsmässig etwa zehn Mal leichter sind als die Fohlen, mehr Einfluss haben auf den gesamten Organismus als bei den Fohlen. Möglich wäre auch, dass sich die operierten Fohlen nach der Operation nicht im selben Masse bewegten wie die Lämmer. Während den operierten Fohlen mit ihren Müttern Boxenruhe verschrieben wurde, konnten sich die Lämmer in ihren Boxen zu mehreren Tieren, in denen sie gehalten wurden, weit mehr und unkontrollierter bewegen als die Fohlen. Dass die operierten Lämmer, bei denen ein Konzentrationsanstieg der bAP zu verzeichnen war, anders reagieren als die operierten Fohlen, kann auch mit der Tatsache zusammenhängen, dass es sich bei den Fohlen um natürlich fehlgestellte Tiere, bei den Lämmern hingegen um gesunde Tiere handelte. Interessant wäre es, die bAP-Konzentrationen natürlich fehlgestellter Lämmer untersuchen zu können. Chanetsa et al. (2000) stellten bei wachsenden Lämmern ebenfalls sinkende AP-Aktivitäten mit zunehmendem Alter fest.

Dass die Konzentrationen von **OC und bAP** nicht parallel verliefen, obwohl es sich bei beiden Parametern um Knochenaufbaumarker handelt, könnte daran liegen, dass die beiden Marker während unterschiedlichen Stadien in der Osteoblastendifferenzierung gebildet werden und deshalb nicht miteinander verglichen werden sollten (Parthemore et al., 1993). Liesegang und Risteli (2005) untersuchten den Verlauf von OC und bAP bei wachsenden Lämmern und Ziegen im Zusammenhang mit unterschiedlichem Calcium-Gehalt in der Futterration. Bei den zu Versuchsbeginn acht Monate alten Tieren wurden die Knochenmarker-Konzentrationen im Abstand von zwei Wochen über insgesamt sechs Wochen bestimmt. Es konnten keine Parallelen zwischen OC und bAP festgestellt werden. Nicodemo et al. (1999) untersuchten die Auswirkungen unterschiedlicher Körpergewichtszunahmen wachsender Lämmer auf das Knochenwachstum und den Knochenstoffwechsel von Lämmern. Dazu verwendeten sie Lämmer mit einem Startgewicht von 18-24 kg, was in etwa dem Körpergewicht der Lämmer unserer Studie entspricht. Nach sieben sowie nach zehn Wochen wurde OC und bAP im Serum bestimmt. In allen drei Gruppen, welche unterschiedliche Wachstumsraten aufgrund unterschiedlicher Fütterung aufwiesen, stiegen die OC-Werte an, während die bAP-Werte sanken. In unserer Studie sanken die OC-Werte der Lämmer kontinuierlich ab, während sich bei der bAP in der op-Gruppe ein minimaler Anstieg, in der Kontrollgruppe hingegen ein Absinken der Werte zeigte. Im Gegensatz zu Nicodemo et

al. (1999) wurden in unserer Studie die Knochenmarker-Konzentrationen nur über drei Wochen gemessen, es bestand also ein deutlich kürzeres Messintervall. Ausserdem bestanden in der Fütterung Unterschiede bezüglich Protein-, Energie- und Mineralstoffgehalt des Futters, was einen Vergleich mit den von Nicodemo et al. (1999) verwendeten Lämmern nicht sinnvoll erscheinen lässt.

Die Konzentrationen des Knochenabbaumarkers **ICTP** fielen bei den Fohlen in beiden Gruppen langsam ab. Ähnliche Verläufe zeigten auch Price et al. (1995), Price et al. (2001) und Vervuert et al. (2007) bei Studien mit wachsenden Fohlen. Dass bei den operierten Fohlen keine Erhöhung der ICTP-Konzentrationen nachzuweisen war, ist erstaunlich, da durch die Operation ein Wachstumsschub in den betroffenen Epiphysenfugen ausgelöst werden müsste, was mit einer erhöhten Knochenresorption einher ginge. Möglicherweise war aber der Untersuchungszeitraum von drei Wochen nach der Operation zu kurz, um die Veränderungen nachzuweisen. Auch ist es möglich, dass die lokale Vermehrung von Knochenauf- und -abbaumarkern in den betroffenen Epiphysenfugen bezogen auf die Gesamtkonzentration im Serum zu gering ist, um nachgewiesen werden zu können. In der Osteoporoseforschung wurde allerdings gezeigt, dass bereits minimste Veränderungen im Knochenabbau mittels Veränderungen der ICTP-Konzentrationen im Serum nachgewiesen werden konnten. Osteoporose betrifft aber die Knochen im ganzen Körper, während in unserer Studie nur einzelne von vielen Epiphysenfugen durch die Operation beeinflusst wurden.

Bei den Lämmern verliefen die ICTP-Konzentrationen ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen, jedoch mit signifikanten zeitlichen Unterschieden. Dabei sanken die Werte zwischen Versuchsbeginn und -ende kontinuierlich ab, was zu erwarten war, da Knochenauf- und -abbau mit zunehmendem Alter abnehmen, bis das Längenwachstum der Knochen abgeschlossen ist. Sinkende ICTP-Werte bei wachsenden Lämmern stellte auch Hüttenmoser (2006) fest. Die Lämmer, die in der erwähnten Studie auf der Alp gehalten wurden, wiesen höhere ICTP-Konzentrationen auf als diejenigen, die im Tal gehalten wurden. Dies lässt sich damit erklären, dass bei den gealpten Tieren durch die Bewegung ein vermehrter Knochenumbau induziert wurde. In der vorliegenden Studie bestand bezüglich Bewegung kein Unterschied zwischen operierten und nicht operierten Tieren, was vermutlich zu ähnlichen Verläufen der ICTP-Konzentrationen führte.

Der zweite untersuchte Knochenabbaumarker, **CTX-I**, zeigte bei den Fohlen keine signifikanten Gruppenunterschiede, aber doch deutliche Tendenzen. In der Gruppe der

operierten Tiere sanken die Konzentrationen während des Versuches langsam ab, der Endwert lag etwas unter dem Anfangswert. Bei den gesunden Fohlen hingegen stiegen die Werte über die Zeit deutlich an und erreichten am Versuchsende wesentlich höhere Werte als die operierten Tiere. Dass sich CTX-I nicht wie alle übrigen Knochenmarker verhält, welche mit zunehmendem Alter sinkende Werte aufweisen, zeigten Billingham et al. (2003) bei Fohlen. Im ersten Lebensmonat sanken die CTX-I-Konzentrationen, stiegen dann aber bis zum Alter von neun Monaten kontinuierlich an. Dies könnte auf eine mit zunehmendem Alter ansteigende Isomerisation und Reifung der Kollagenabbauprodukte, welche vom verwendeten Immunoassay ermittelt werden, hindeuten. Interessant ist, dass die Konzentrationen der beiden Kollagenabbaumarker ICTP und CTX-I unterschiedlich verlaufen. Es ist denkbar, dass die für die Kollagenspaltung nötigen Enzyme Cathepsin K und Metalloproteinase nicht zum gleichen Zeitpunkt aktiv sind und sich somit die ICTP- und CTX-I-Konzentrationen zu unterschiedlichen Zeitpunkten verändern. Auch Pastoret et al. (2007) untersuchten den Zusammenhang zwischen Alter und CTX-I-Konzentrationen und fanden bei Ardenner-Pferden ebenfalls einen leichten Anstieg mit zunehmendem Alter.

In der Gruppe der operierten Lämmer fielen die CTX-I-Konzentrationen in den ersten Tagen nach der Operation ab, stiegen dann aber wieder etwas an. In der Gruppe der Kontrolltiere waren Anfangs- und Endwert identisch. Die Interpretation des Abfalls der CTX-I-Konzentrationen zu Versuchsbeginn bei der Gruppe der operierten Tiere ist schwierig. Betrachtet man die Konzentrationsverläufe der einzelnen Tiere, so fällt auf, dass starke Schwankungen über die Zeit zu beobachten sind. Versuchsgruppen mit höheren Tierzahlen wären in diesem Zusammenhang wünschenswert, um ein einheitlicheres Gesamtbild innerhalb der Gruppen zu erhalten. Tatara (2008) untersuchte den Verlauf der Knochenmarkerkonzentrationen bei gesunden Lämmern im Alter von 3 und 18 Wochen und stellte, wie oben bei den Fohlen von Billingham et al. (2003) erwähnt, ebenfalls signifikant ansteigende CTX-I-Werte fest.

Der **Vergleich von OC und ICTP**, also einem Knochenaufbau- und einem -abbaumarker, zeigte sowohl bei den Fohlen als auch bei den Lämmern eine positive Korrelation. Höhere OC-Konzentrationen führten zu höheren ICTP-Konzentrationen. Dies ist dadurch zu erklären, dass Knochenumbau ein Zusammenspiel von Knochenauf- und -abau ist. Da sich die Tiere im Wachstum befinden, ist die Knochenformation von zentraler Bedeutung. Positive Korrelationen zwischen OC und ICTP fanden auch Lepage et al. (1998) bei Pferden im Alter 4 bis 15 Jahren. Bei diesen Pferden war das Verhältnis OC zu ICTP nicht altersabhängig,

sondern nur von der Rasse beeinflusst. Kaltblüter hatten eine tiefere Knochenumbaurate als Warmblüter, was mit einer tendentiell höheren Belastung der Warmblüter dank intensiverer körperlicher Bewegung zu tun haben könnte.

Der Quotient OC/ICTP zeigte bei den Lämmern deutliche, aber nicht signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. In der Gruppe der operierten Tiere stieg der Quotient in den ersten 14 Tagen deutlich an, bevor er auf ein etwas tieferes Niveau als zu Versuchsbeginn abfiel. Dies bedeutet also, dass in den ersten zwei Wochen nach der Operation deutlich mehr Knochen umgebaut wurde als vor der Operation. Dies könnte eine Reaktion auf die Operation sein, welche die Epiphysenfugen zu verstärktem Knochenumbau und damit zu vermehrtem Längenwachstum anregt. Ob die Lämmerknochen an den operierten Stellen tatsächlich mehr wuchsen und mit der Operation der gesunden Knochen eine Achsenabweichung nach medial provoziert wurde, liess sich in den drei Wochen des Versuches optisch nicht beurteilen. Für eine Beurteilung der Achsenabweichung der operierten Lämmer wäre es vielleicht sinnvoll gewesen, diese mittels wiederholter Röntgenaufnahmen zu dokumentieren. Ob in dieser kurzen Zeit jedoch tatsächlich eine Achsenabweichung zu beobachten gewesen wäre, bleibt fraglich. In der Gruppe der Kontrolltiere sank der Quotient OC/ICTP kontinuierlich ab, der Knochenumbau ging also etwas zurück. Dies ist wenig erstaunlich, da sowohl die OC- als auch ICTP-Konzentrationen im Verlauf des Versuches absanken.

Bei den Fohlen konnte bei den operierten Tieren nach der Operation ebenfalls ein Anstieg des Knochenumbaus beobachtet werden, allerdings in geringerem Ausmass als bei den Lämmern. Dennoch war die Knochenumbaurate drei Wochen nach der Operation deutlich höher als vor der Operation. Demgegenüber sank die Knochenumbaurate bei den nicht operierten Kontrollfohlen zwischen Versuchsbeginn und -ende deutlich ab, was den Resultaten der Kontrollgruppe der Lämmer entspricht. Die Tatsache, dass der Quotient OC/ICTP sowohl bei den Fohlen als auch bei den Lämmern deutliche Unterschiede zwischen operierten und nicht operierten Tieren aufzeigt, lässt vermuten, dass der Quotient OC/ICTP, also das Mass für den Knochenumbau, eine höhere Aussagekraft besitzt als die einzelnen Knochenmarker per se.

Die Konzentrationen des Knorpelaufbaumarkers **CPII** verliefen bei den Fohlen in den beiden Gruppen unterschiedlich. Bei den operierten Tieren sanken die CPII-Konzentrationen im Serum während der Dauer des Versuches langsam ab. Bei den gesunden Fohlen hingegen stiegen die Konzentration deutlich, aber nicht signifikant an. Dieselbe Beobachtung machten Billingham et al. (2003) sowie Donabédian et al. (2008) bei gesunden Fohlen, indem die CPII-Konzentrationen bis zum Alter von fünf bis sieben Monaten signifikant zunahmen. Eine

mögliche Erklärung für dieses Phänomen besteht in der Tatsache, dass sich neugeborene Fohlen in den ersten Lebensmonaten viel bewegen und der Gelenkknorpel durch die Belastung zu weiterer Formation angeregt wird. Da die operierten Fohlen dieser Studie nach der Operation Stallruhe verordnet bekamen, bewegten sie sich weniger als die gesunden Kontrollfohlen, was zu einem verminderten Knorpelaufbau geführt haben könnte. Bei den Lämmern war ein solches Phänomen nicht zu beobachten, hier stiegen die CPII-Konzentrationen in beiden Gruppen signifikant an. Dies könnte einerseits damit zusammenhängen, dass die Lämmer nach der Operation in ihrer Bewegung im Vergleich zu den nicht operierten Kontrolltieren genau gleich gehalten wurden, also keine Bewegungseinschränkung erfuhren. Andererseits war die Ausgangslage zu Versuchsbeginn bei den Lämmern im Gegensatz zu den Fohlen unterschiedlich, da es sich bei allen Lämmern um gesunde Tiere handelte, bei den Fohlen hingegen um kranke, also achsenfehlgestellte Fohlen sowie gesunde Kontrolltiere.

Antoniou et al. (1996) untersuchten Veränderungen der Biosynthese und Denaturierung der extrazellulären Matrix in den Wachstumsfugen von Kindern und fanden steigende CPII-Konzentrationen zwischen Geburt und dem Alter von fünf Jahren. Danach fielen die Konzentrationen bis ins hohe Alter kontinuierlich ab.

Demgegenüber verhielt sich der Knorpelabbaumarker **CTX-II** sowohl bei den Fohlen als auch bei den Lämmern ähnlich wie die Knochenabbaumarker, die Konzentrationen sanken von Versuchsbeginn bis Versuchsende kontinuierlich ab. Bei den operierten Fohlen waren während der gesamten Versuchsdauer deutlich tiefer CTX-II-Konzentrationen zu beobachten als bei den nicht operierten Kontrolltieren. Möglicherweise ist dies ein Hinweis auf vermehrten Knorpelabbau bei Fohlen mit Fehlstellungen, der zu einem eingeschränkten Knorpelumbau und damit zu vermindertem Wachstum in den Epiphysenfugen führen könnte. Bei Fohlen ist bisher keine Studie bekannt, welche CTX-II als Knorpelabbaumarker verwendet. Donabédian et al. (2008) massen die Konzentrationen von C2C, einem Kollagen II-Abbaumarker, der ein anderes Epitop repräsentiert als CTX-II (siehe Abb. 12). Bei Fohlen im Alter von 2 bis 30 Wochen wurden mit zunehmendem Alter steigende Konzentrationen von C2C beobachtet, was den Ergebnissen dieser Studie widerspricht. Allerdings handelt es sich wie bereits erwähnt nicht um denselben Knorpelabbaumarker wie in unserer Studie, so dass Vergleiche mit Vorsicht zu interpretieren sind.

Bei den Lämmern bestand bereits zu Versuchsbeginn ein Unterschied bezüglich der CTX-II-Konzentrationen von operierten Tieren und Kontrolltieren, indem die Kontrolltiere deutlich

höhere CTX-II-Konzentrationen aufwiesen als die operierten Tiere. Am Tag 2 war der Unterschied signifikant. Anschliessend verringerte er sich bis zum Versuchsende so weit, dass kein signifikanter Unterschied mehr bestand. Da es sich bei den Lämmern beider Gruppen um gesunde Tiere handelte, die unter den genau gleichen Haltungs- und Fütterungsbedingungen gehalten wurden und die Aufteilung in die beiden Gruppen zufällig erfolgte, scheint dieser zu Beginn der Studie aufgetretene Unterschied zufällig zu sein. Es wäre aber möglich, dass durch die Operation der Knorpelumbau angeregt wurde und damit die CTX-II-Konzentrationen weniger stark abfielen als diejenigen der Kontrollgruppe, so dass sich am Versuchsende die Konzentrationen der beiden Gruppen wieder annäherten. Bisher sind keine Studien bekannt, welche CTX-II als Knorpelabbaumarker bei Lämmern verwendeten, was die Interpretation der Resultate dieser Studie schwierig macht.

Der **Vergleich von CPII und CTX-II** ergab bei Fohlen und Lämmern ein unterschiedliches Bild. Die Korrelation zwischen CPII und CTX-II war bei den Fohlen positiv, bei den Lämmern negativ. Allerdings waren die Werte sehr weit gestreut, was eine sinnvolle Interpretation schwierig macht. Da keine anderen Studien vorliegen, welche sich mit der Korrelation von CPII und CTX-II beschäftigen, ist kein Vergleich möglich. Auch kann nicht mit Bestimmtheit gesagt werden, dass CTX-II bei Fohlen und Lämmern ein geeigneter Marker für den Knorpelabbau ist.

Der Quotient $\text{CPII}/\text{CTX-II}$, welcher ein Mass für den Knorpelumbau darstellt, stieg sowohl bei den Lämmern als auch bei den Fohlen zwischen Versuchsbeginn und -ende an, wobei zwischen den Gruppen keine Unterschiede zu erkennen waren. Der Anstieg bei den Fohlen war deutlicher als derjenige bei den Lämmern. Diese Unterschiede könnten speziesspezifisch sein. Es wäre denkbar, dass bei den Lämmern ein deutlicherer Anstieg des Knorpelumbaus einige Wochen früher stattfindet, da Schafe eine früher ausgewachsen sind als Pferde und die Knochen- und Knorpelreifung demnach auch schneller ablaufen könnte.

Knochendichte und -mineralstoffgehalt

Für die Bestimmung von Knochendichte und Knochenmineralstoffgehalt wurden die Gliedmassen der Lämmer in drei Gruppen eingeteilt, namentlich operierte Gliedmassen, kontralaterale, nicht operierte Gliedmassen von operierten Tieren und Gliedmassen nicht operierter Kontrolltiere. Zwischen den Gruppen bestanden zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede. Im zeitlichen Verlauf traten dagegen signifikante Veränderungen auf. So konnte sowohl bei der Knochendichte als auch beim Mineralstoffgehalt über die Zeit eine

Zunahme der Werte beobachtet werden. Denselben Verlauf beschrieb Hüttenmoser (2006) bei wachsenden Lämmern. Begründet werden kann diese Tatsache damit, dass beim wachsenden Tier die Knochen in den ersten Lebenswochen und Monaten zunehmend mineralisiert und verdichtet werden, um der gesteigerten Belastung, welche mit zunehmendem Körpergewicht auf die Knochen wirkt, gerecht zu werden.

Die Werte der pQCT-Messungen wiesen grosse Unterschiede auf, und damit wurde ein hoher Standardfehler berechnet. Grund dafür könnte sein, dass die Messorte an den verschiedenen Knochen anhand von Palpationen von Knochenvorsprüngen bestimmt wurden, was eine möglicherweise ungenaue Methode darstellt. Auf die Verwendung exakterer Methoden wurde im Sinne der Versuchstiere bewusst verzichtet, um die Untersuchung möglichst kurz und schonend, das heisst ohne Sedation der Tiere, durchführen zu können. Bei der Vermessung von Knochen post mortem bestand die Möglichkeit, den exakten Messort mittels eines Übersichtsscans festzulegen und erst dann die eigentliche Messung durchzuführen.

Das Verhältnis BMC zu BMD wies eine positive Korrelation auf, was zu erwarten war, da die zunehmende Mineralisierung der Knochen auch eine zunehmende Knochendichte bedeutet. Die fehlenden Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich Knochendichte und Mineralgehalt können dadurch interpretiert werden, dass mit dem Eingriff des "Periost stripping" nur ein ganz lokaler, minimaler Eingriff an der Knochenhaut durchgeführt wurde, welcher nur minimste Veränderung am Knochen per se bewirkte. Die Methode des pQCT scheint zu ungenau und damit nicht ideal zu sein, um so kleine Differenzen lokal aufzuzeigen. Die Immunhistochemie könnte die sensiblere und damit sinnvollere Methode sein, um Veränderungen in den Epiphysenfugen lokal darzustellen, was allerdings nur nach Tötung der Tiere möglich ist.

Immunhistochemie

Die Aufbereitung der Lämmerknochen für die Immunhistochemie wurde vorerst mit acht operierten Knochen als Pilotversuch gestartet. Es liegen erst wenige Resultate vor, von welchen noch keine allgemeinen Tendenzen abgeleitet werden können. Was bisher festgestellt werden konnte, waren unterschiedliche Expressionen von Ihh, PTHrP, FGF-2 und TGF- β in den sechs Zonen der Epiphysenfuge von lateral nach medial. Tendentiell waren auf der lateralen, operierten Seite deutlich mehr angefärbte Zellen zu erkennen als auf der medialen, nicht operierten Seite des Knochens. Es ist denkbar, dass die Inzision der Knochenhaut eine vermehrte Aktivität der Wachstumsfaktoren in diesen Zonen zur Folge hat. Die intensivste Anfärbung wurde bei allen untersuchten Signalmolekülen in der proliferativen sowie in der

hypertrophen Zone der Epiphysenfuge gefunden. Dies ist nicht weiter erstaunlich, da die meisten Signalmoleküle von proliferativen und hypertrophen Chondrozyten exprimiert werden. Unterschiede bestanden auch zwischen den einzelnen Knochen. So wurden beim Ihh in der Epiphysenfuge der Tibia deutlich mehr angefärbte Zellen detektiert als in der Epiphysenfuge des Metatarsus desselben Tieres. Möglicherweise sind die Epiphysenfugen der Tibia bei Lämmern im Alter von 12 Wochen in einer Phase starken Knochenwachstums und darum sensibel für vermehrte Wachstumsfaktoren-Aktivität. Die deutlich geringere Anfärbung der Zellen in den Epiphysenfugen des Metatarsus könnte damit erklärt werden, dass die Knochenreifung im Metatarsus früher abgeschlossen ist als in der Tibia (Fretz et al., 1984) und damit die Phase vermehrten Wachstums bereits verstrichen ist. Über den optimalen Zeitpunkt des "HCTP and PS" an den einzelnen Knochen ist bis heute wenig bekannt. Auer und von Rechenberg (2006) empfehlen generell, den Eingriff bei Fohlen spätestens im Alter von drei Monaten vorzunehmen.

Auch scheint es, dass die Blutversorgung durch kleinste Gefäße in den operierten Epiphysenfugen intensiver ist als in den nicht operierten Knochen, was eine vermehrte Zufuhr von Wachstumsfaktoren zur Folge haben könnte. Wahrscheinlich ist die Untersuchung dieser lokalen Faktoren in den operierten und nicht operierten Epiphysenfuge aussagekräftiger als die Untersuchung von Knochen- und Knorpelmarkern im Serum, da mit der Inzision der Knochenhaut ein minimier, lokal begrenzter Eingriff vorgenommen wird. Auer und von Rechenberg (2006) vermuten, dass die chirurgische Intervention beim "Periost stripping" die Aufregulierung von Ihh bewirkt (Publikation in Vorbereitung). Ihh erreicht die Epiphysenfuge via afferente Blutgefäße und ist für die Aufregulierung von PTH zuständig, welches das lokale Knochenwachstum in der Epiphysenfuge stimuliert. Der Vergleich von operierten Knochen und kontralateralen, nicht operierten Knochen desselben Tieres wird zeigen, ob die Operation unterschiedliche Expressionen dieser lokalen Wachstumsfaktoren bewirkt.

6.1. Schlussfolgerung

Ziel der Arbeit war, die Frage zu klären, welche Auswirkungen das "Periost stripping" auf den nativen Vitamin D-Spiegel, auf die Knochen- und Knorpelmarkerkonzentrationen sowie auf die Knochendichte und den Knochenmineralstoffgehalt von Fohlen und Lämmern ausübt. Sowohl bei den Fohlen als auch bei den Lämmern waren mit Ausnahme des CTX-II bei keinem der obigen Parameter signifikante Unterschiede zwischen operierten Tieren und nicht operierten Kontrolltieren zu erkennen. Allerdings wiesen sowohl die operierten Fohlen als auch die operierten Lämmer deutlich höhere OC/ICTP-Quotienten auf als die nicht operierten Kontrolltiere, was auf eine erhöhte Knochenumbaurate als Folge der Operation schliessen lässt. Die Hypothese, wonach operierte Tiere erhöhte $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ -Konzentrationen, veränderte Knochen- und Knorpelmarkerkonzentrationen und in den operierten Epiphysenfugen erhöhte Knochendichten und -mineralgehalte aufweisen könnten, konnte somit nur in Teilbereichen bestätigt werden. Grund dafür könnte einerseits sein, dass die Untersuchungsdauer von drei Wochen nach der Operation zu kurz war, um systemische Veränderungen nachzuweisen. Es wäre möglich, dass Veränderungen im Knochen- und Knorpelstoffwechsel erst später eintreten. Andererseits scheint es, dass die Auswirkungen des "Periost stripping" eher lokaler als systemischer Art waren. Es ist denkbar, dass auf systemischer Ebene nur minimste Veränderungen von Knochen- und Knorpelmarkerkonzentrationen erfolgten, welche mittels der verwendeten Methoden nicht ersichtlich waren. Diese Vermutung zu bestätigen scheint die Tatsache, dass erste Tendenzen der Immunhistochemie auf ein vermehrtes Auftreten lokaler Wachstumsfaktoren an den operierten Lokalisationen in den Epiphysenfugen hinweisen. In Zukunft soll der Fokus vermehrt auf die Veränderungen in den betroffenen Epiphysen gelegt werden. Mittels Immunhistochemie sollen Wachstumsfaktoren wie Ihh, PTHrP, FGF-2 und TGF- β sowohl in operierten als auch in nicht operierten Epiphysenfugen von Lämmern detektiert und mittels Auszählung von Zellen quantifiziert werden. So wird es möglich sein, die Aktivität dieser Faktoren in den Epiphysenfugen aufzuzeigen und die Auswirkungen des "Periost stripping" zu demonstrieren.

7. Literaturverzeichnis

Adams S.L., Cohen A.J., Lasso L. 2007:

Integration of signaling pathways regulating chondrocyte differentiation during endochondral bone formation.

J. Cell. Physiol. **213**, 635-641

Allen M.J., Hoffmann W.E., Richardson D.C., Breur G.J. 1998:

Serum markers of bone metabolism in dogs.

Am. J. Vet. Res. **59**, 250-254

Allen M.J. 2003:

Biochemical markers of bone metabolism in animals: Uses and limitations.

Vet. Clin. Pathol. **32**, 101-113

Ameye L.G., Deberg M., Oliveira M., Labasse A., Aeschlimann J.M., Henrotin Y. 2007:

The chemical biomarkers C2C, Coll2-1, and Coll2-1NO₂ provide complementary information on type II collagen catabolism in healthy and osteoarthritic mice.

Arthritis Rheum. **56**, 3336-3346

Ammann P., Rizzoli R. 2003:

Bone strength and its determinants.

Osteoporos. Int. **14** Suppl. 3, 13-18

Antoniou J., Goudsouzian N.M., Heathfield T.F., Winterbottom N., Steffen T., Poole A.R., Aebi M., Alini M. 1996:

The human lumbar endplate. Evidence of changes in biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, aging, and degeneration.

Spine **21**, 1153-1161

Arens D., Sigrist I., Alini M., Schawalter P., Schneider E., Egermann M. 2006:

Seasonal changes in bone metabolism in sheep.

Vet. J. **174**, 585-591

Arican M., Carter S.D., Bennett D. 1996:

Osteocalcin in canine joint diseases.

Br. Vet. J. **152**, 411-423

Auer J.A., Martens R.J. 1982:

Periosteal transection and periosteal stripping for correction of angular limb deformities in foals.

Am. J. Vet. Res. **43**, 1530-1534

Auer J.A. 1999:

Equine surgery. 2nd ed.

Saunders Verlag Philadelphia USA, pp 736-752

Auer J.A. 2004:

Diagnose und Behandlung von Achsenfehlstellungen bei Fohlen.

Skriptum für Studierende der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich

Auer J.A., von Rechenberg B. 2006:

Treatment of angular limb deformities in foals.

Clin. Tech. Equine Pract. **5**, 270-281

Augat P., Merk J., Genant H.K., Claes L. 1997:

Quantitative assessment of experimental fracture repair by peripheral computed tomography.

Calcif. Tissue Int. **60**, 194-199

Ballock R.T., O'Keefe R.J. 2003:

Physiology and pathophysiology of the growth plate.

Birth Defects Res. (Part C) **69**, 123-143

Bassett J.H.D., Swinhoe R., Chassande O., Samarut J., Williams G.R. 2006:

Thyroid hormone regulates heparin sulphate proteoglycan expression in the growth plate.

Endocrinology **147**, 295-305

Bertone A.L., Turner S., Park R.D. 1985:

Periosteal transection and stripping for treatment of angular limb deformities in foals: Clinical observations.

J. Am. Vet. Med. Assoc. **187**, 145-152

Billingham R.C., Dahlberg L., Ionescu M., Reiner A., Bourne R., Rorabeck C., Mitchell P., Hambor J., Diekmann O., Tschesche H., Chen J., Van Wart H., Poole A.R., 1997:

Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage.

J. Clin. Invest. **99**, 1534-1545

Billingham R.C., Brama P.A.J., van Weeren P.R., Knowlton M.S., McIlwraith C.W. 2003:

Significant exercise-related changes in the serum levels of two biomarkers of collagen metabolism in young horses.

Osteoarthritis Cartilage **11**, 760-769

Billingham R.C., Brama P.A.J., van Weeren P.R., Knowlton M.S., McIlwraith C.W. 2004:

Evaluation of serum concentrations of biomarkers of skeletal metabolism and results of radiography as indicators of severity of osteochondrosis in foals.

Am. J. Vet. Res. **65**, 143-150

Black A., Schoknecht P. A., Ralston S.L., Shapses S.A. 1999:

Diurnal variation and age differences in the biochemical markers of bone turnover in horses.

J. Anim. Sci. **77**, 75-83

Blake G.M., Knapp K.M., Spector T.D., Fogelman I. 2006:

Predicting the risk of fracture at any site in the skeleton: Are all bone mineral density measurement sites equally effective?

Calcif. Tissue Int. **78**, 9-17

Boylan B.D., Sylvia V.L., Dean D.D., Del Toro F., Schwartz Z. 2002:

Differential regulation of growth plate chondrocytes by 1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ and 24R25-(OH) $_2$ D $_3$ involves cell-maturation-specific membrane-receptor-activated phospholipid metabolism.

Crit. Rev. Oral. Biol. Med. **13**, 143-154

Bramlage L.R., Auer J.A. 2006:

Diagnosis, assessment, and treatment strategies for angular limb deformities in the foal.
Clin. Tech. Equine Pract. **5**, 259-269

Bushinsky, D.A., Monk, R.D. 1998:

Calcium.

Lancet **352**, 306-311

Caron J.P. 1988:

Angular limb deformities in foals.

Equine Vet. J. **20**, 225-228

Carstanjen B., Lepage O.M., Detilleux J., Duboeuf F., Amory H. 2002:

Use of multisite quantitative ultrasonography for noninvasive assessment of bone in horses.

Am. J. Vet. Res. **63**, 1464-1469

Carstanjen B., Sulon J., Banga-Mboko H., Beckers J.F., Repy B. 2003:

Development and validation of a specific radioimmunoassay for equine osteocalcin.

Dom. Anim. Endocrinol. **24**, 31-41

Carstanjen B., Hoyle N.R., Gabriel A., Hars O., Sandersen C., Amory H., Remy B. 2004:
Evaluation of plasma carboxy-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen concentration in horses.

Am. J. Vet. Res. **65**, 104-109

Carstanjen B. 2006:

Einsatz biochemischer Knochenstoffwechselmarker in der Veterinärmedizin.

Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **119**, 425-435

Céleste C., Ionescu M., Poole A.R., Laverty S. 2005:

Repeated intraarticular injections of triamcinolone acetonide alter cartilage matrix metabolism measured by biomarkers in synovial fluid.

J. Orthop. Res. **23**, 602-610

Chanetsa F., Hillman L.S., Thomas M.G., Keisler D.H. 2000:

Estrogen agonist (Zeranol) treatment in a castrated male lamb model: Effects on growth and bone mineral accretion.

J. Bone Miner. Res. **15**, 1361-1367

Chavassieux P., Garnero P., Duboeuf F., Vergnaud P., Brunner-Ferber F., Del mas P.D., Meunier P.J. 2001:

Effects of a new selective estrogen receptor modulator (MDL 103,323) on cancellous and cortical bone in ovariectomized ewes: A biochemical, histomorphometric, and densitometric study.

J. Bone Miner. Res. **16**, 89-96

Chevalier X., Conrozier T. 2005:

Biological markers for osteoarthritis: an update.

Joint Bone Spine **72**, 106-109

Chiappi C.M.L. 2003:

Auswirkungen des Ca-Angebotes und einer Fütterung mit sauren Salzen auf Mineralstoffhaushalt und Knochenstoffwechsel der Milchkuh im peripartalen Zeitraum.
Dissertation Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Christenson R.H. 1997 :

Biochemical markers of bone metabolism: An overview.
Clin. Biochem. **30**, 573-593

Christgau S., Rosenquist C., Alexandersen P., Hannover Bjarnason N., Ravn P., Fledelius C., Herling C., Qvist P., Christiansen C. 1998:

Clinical evaluation of the serum crosslaps one step ELISA, a new assay measuring the serum concentrations of bone-derived degradation products of the type I collagen C-telopeptides.
Clin. Chem. **44**, 2290-2300

Chubinskaya S., Kuettner K.E. 2003:

Regulation of osteogenic proteins by chondrocytes.
Internat. J. Biochem. Cell Biol. **35**, 1323-1340

Chung U., Schipani E., McMahon A.P., Kronenberg H.M. 2001:

Indian Hedgehog couples chondrogenesis in enchondral bone development.
J. Clin. Invest. **107**, 295-304

Conrozier T., Ferrand F., Poole A.R., Verret C., Mathieu P., Ionescu M., Vincent F., Piperno M., Spiegel A., Vignon E. 2007:

Differences in biomarkers of type II collagen in atrophic and hypertrophic osteoarthritis of the hip: implications for the differing pathobiologies.
Osteoarthritis Cartilage **15**, 462-467

Corlett S.C., Couch M., Care A.D., Sykes A.R. 1990:

Measurement of plasma osteocalcin in sheep: Assessment of circadian variation, the effects of age and nutritional status and the response to perturbation of the adrenocortical axis.
Exp. Physiol. **75**, 515-527

Dambacher M.A., Neff M., Qin L., Rügsegger P. 2001:

2- und 3-dimensionale Knochenstrukturen in vivo und in vitro.
J. Miner. Stoffwechs. **3**, 26-33

Damilakis J., Maris T.G., Karantanas A.H. 2007:

An update on the assessment of osteoporosis using radiologic techniques.
Eur. Radiol. **17**, 1591-1602

Davicco M.-J., Faulconnier Y., Coxam V., Dubroeuq H., Martin-Rosset W., Barlet J.-P. 1994:

Systemic bone growth factors in light breed mares and their foals.
Arch. Int. Physiol. Biochim. Biophys. **102**, 115-119

Davis C.R., Karl J., Granell R., Kirwan J.R., Fasham J., Johansen J., Garner P., Sharif M. 2007:

Can biochemical markers serve as surrogates for imaging in knee osteoarthritis?
Arthritis Rheum. **56**, 4038-4047

Dean D.D., Boyan B.D., Schwartz Z., Muniz O.E., Carreno M.R., Maeda S., Howell D.S. 2001:

Effect of 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 24R,25-Dihydroxyvitamin D₃ on metalloproteinase activity and cell maturation in growth plate cartilage in vivo.
Endocrine **14**, 311-323

De Behr V., Daron D., Gabriel A., Remy B., Dufrasne I., Serteyn D., Istasse L. 2003:

The course of some bone remodelling plasma metabolites in healthy horses and in horses offered a calcium-deficient diet.
J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **87**, 149-159

De Grauw J.D., Brama P.A., Wiemer P., Brommer H., van de Lest C.H., van Weeren P.R. 2006:

Cartilage-derived biomarkers and lipid mediators of inflammation in horses with osteochondritis dissecans of the distal intermediate ridge of the tibia.
Am. J. Vet. Res. **67**, 1156-1162

Delguste C., Amory H., Doucet M., Piccot-Crézollet C., Thibaud D., Garnerio P, Dettelleux J., Lepage O.M. 2007:

Pharmacological effects of tiludronate in horses after long-term immobilization.
Bone **41**, 414-421

Delmas P.D. 1990:

Biochemical markers of bone turnover for clinical assessment of metabolic bone disease.
Endocrinol. Metab. Clin. North Am. **19**,

Desbrosse F., Mooseri S., Perrin R., Launois M.-T. 2003:

La mise au point d'un petit scanner dédié au membre du cheval, applications pratiques.
Bull. Soc. Vét. Prat. De France **87**, 126-137

Donabédian M., van Weeren P.R., Perona G., Fleurance G., Robert C., Leger S., Bergero D., Lepage O., Martin-Rosset W. 2008:

Early changes in biomarkers of skeletal metabolism and their association to the occurrence of osteochondrosis (OC) in the horse.
Equine Vet. J. **40**, 253-259

Ducy P., Zhang T., Geoffroy V., Ridall A.L., Karsenty G. 1997:

Osf2/Cbfa1: A transcriptional activator of osteoblast differentiation.
Cell **89**, 747-754

Dutton D.M., Watkins J.P., Honnas C.M., Hague B.A. 1999:

Treatment response and athletic outcome of foals with tarsal valgus deformities: 39 cases (1988-1997).
J. Am. Vet. Med. Assoc. **215**, 1481-1484

Engelke K., Karolczak M. Lutz A., Seibert U., Schaller S., Kalender W. 1999:

Mikro-CT; Technologie und Applikation zur Erfassung von Knochenarchitektur.
Radiologe **39**, 203-212

Engelke K. 2002:

Quantitative Computertomographie.

J. Miner. Stoffwechs. **9**, 22-31

Erben R.G. 2000:

Knochen und Calciumhomöostase.

In: Engelhardt W., Breves G.: Physiologie der Haustiere.

Enke Verlag Stuttgart, Deutschland, pp 580-583

Eriksen H.A., Sharp C.A., Robins S.P., Sassi M-L., Risteli L., Risteli J. 2004:

Differently cross-linked and uncross-linked carboxy-terminal telopeptides of type I collagen in human mineralised bone.

Bone **34**, 720-727

Felsenberg D., Gowin W. 1999:

Knochendichtemessung mit Zwei-Spektrum-Methoden.

Radiologie **39**, 186-193

Felsenberg D. 2001:

Struktur und Funktion des Knochens.

Pharmazie unserer Zeit **30**, 488-494

Ferretti J.L. 1995:

Perspectives of pQCT technology associated to biomechanical studies in skeletal research employing rat models.

Bone **17** Suppl., 353S-364S

Findlay D.M., Sexton P.M. 2004:

Mini Review: Calcitonin.

Growth Factors **22**, 217-224

Fradette M.-E., Céleste C., Richard H., Beauchamp G., Laverty S. 2007:

Effects of continuous oral administration of phenylbutazone on biomarkers of cartilage and bone metabolism in horses.

Am. J. Vet. Res. **68**, 128-133

Fretz P.B., Cymbaluk N.F., Pharr J.W. 1984:

Quantitative analysis of long-bone growth in the horse.

Am. J. Vet. Res. **45**, 1602-1609

Frisbie D.D., Ray C.S., Ionescu M., Poole A.R., Chapman P.L., McIlwraith C.W. 1999:

Measurement of synovial fluid and serum concentrations of the 846 epitope of chondroitin sulphate and of carboxy propeptides of type II procollagen for diagnosis of osteochondral fragmentation in horses.

Am. J. Vet. Res. **60**, 306-309

Garnero P. 2000:

Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk.

Osteoporos. Int. Suppl. **6**, 55-65

Garnero P., Borel O., Delmas P.D. 2001a:

Evaluation of a fully automated serum assay for C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen in osteoporosis.

Clin. Chem. **47**, 694-702

Garnero P., Piperno M., Gineyts E., Christgau S., Delmas P.D., Vignon E. 2001b:

Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage.

Am. Rheum. Dis. **60**, 619-626

Garnero P., Peterfy C., Zaim S., Schoenharting M. 2005:

Bone marrow abnormalities on magnetic resonance imaging are associated with type II collagen degradation in knee osteoarthritis.

Arthritis Rheum. **52**, 2822-2829

Gasser J.A. 1995:

Assessing bone quantity by pQCT.

Bone **17** Suppl., 145S-154S

Gerber H.P., Vu T.H., Ryan A.M., Kowalski J., Werb Z., Ferrara N. 1999:

VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during enchondral bone formation.

Nat. Med. **5**, 623-628

Glade M.J., Belling T.H. 1984:

Growth plate cartilage metabolism, morphology and biochemical composition in over- and underfed horses.

Growth **48**, 473-482

Glüer C.-C., Barkmann R., Heller M. 1999:

Quantitativer Ultraschall.

Radiologie **39**, 213-221

Görges R. 2005:

Bestimmung von Kalzitinin.

Der Nuklearmediziner **28**, 4-10

Grampp S., Henk C.B., Imhof H. 1999:

Die klinische Anwendung der Densiometrie.

Radiologie **39**, 222-227

Grampp S. 2002:

Klinische Anwendung der Densiometrie.

J. Miner. Stoffwechs. **9**, 16-21

Gratzl M. 2002:

Knochen.

In: Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O.:

Histologie.

5. Aufl. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 92-103

Greet T.R.C. 2000:

Managing flexural and angular limb deformities: The Newmarket perspective.
AAEP Proceedings **46**, 130-136

Grier S.J., Turner A.S., Alvis M.R. 1996:

The use of dual-energy X-ray absorptiometry in animals.
Invest. Radiol. **31**, 50-62

Grünwald J., Graubmann H.-J. Busch R. 2006:

Osteoporose-Prophylaxe und Minderung rheumatischer Beschwerden durch eine Mineralstoff- und Vitaminkombination.
Ernährung und Medizin **21**, 72-76

Guglielmi G., Lang T.F. 2002:

Quantitative computed tomography.
Semin. Musculoskelet. Radiol. **6**, 219-227

Guillemant J.A., Accarie C.M., de la Gueronniere V., Guillemant S.E. 2003:

Different acute response of serum type I collagen telopeptides, CTX, NTX and ICTP, after repeated ingestion of calcium.
Clin. Chim. Acta **337**, 35-41

Haberhauer G., Feyertag J., Dunky A. 2003:

Knorpel-Stoffwechsel: Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) als „Prognostikum“ der Gelenkknorpel-Destruktion.
J. Miner. Stoffwechsel **10**, 17-21

Hank A.M., Hoffmann W.E., Sanecki R.K., Schaeffer D.J., Dorner J.L. 1993:

Quantitative determination of equine alkaline phosphatase isoenzymes in foal and adult serum.
J. Vet. Intern. Med. **7**, 20-24

Hans D., Fuerst T., Lang T., Majumdar S., Lu Y., Genant H.K., Glüer C. 1997:

How can we measure bone quality?
Baillieres Clin. Rheumatol. **11**, 495-515

Henrotin Y., Addison S., Kraus V., Deberg M. 2007:

Type II collagen markers in osteoarthritis: what do they indicate?
Curr. Opin. Rheumatol. **19**, 444-450

Henson F.M.D., Davies M.E., Skepper J.N., Jeffcott L.B. 1995:

Localisation of alkaline phosphatase in equine growth cartilage.
J. Anat. **187**, 151-159

Hintz H.F., Schryver H.F. 1976:

Nutrition and bone development in horses.
J. Am. Vet. Med. Assoc. **168**, 39-44

Hoekstra K.E., Nielsen B.D., Orth M.W., Rosenstein D.S., Schott II H.C., Shelle J.E. 1999:

Comparison of bone mineral content and biochemical markers of bone metabolism in stall- vs. pasture-reared horses.

Equine Vet. J., Suppl. **30**, 601-604

Hoffman R.M., Lawrence L.A., Kronfeld D.S., Cooper W.L., Sklan D.J., Dascanio J.J., Harris P.A. 1999:

Dietary carbohydrates and fat influence radiographic bone mineral content of growing foals.

J. Anim. Sci. **77**, 3330-3338

Hope E., Johnston S.D., Hegstad R.L., Geor R.J., Murphy M.J.M. 1993:

Effects of sample collection and handling on concentration of osteocalcin in equine serum.

Am. J. Vet. Res. **54**, 1017-1020

Hotta H., Yamada H., Takaishi H., Abe T., Morioka H., Kikuchi T., Fujikawa K., Toyama Y. 2005:

Type II collagen synthesis in the articular cartilage of a rabbit model of osteoarthritis: expression of type II collagen C-propeptide and mRNA especially during early-stage osteoarthritis.

J. Orthop. Sci. **10**, 595-607

Huebner A.K., Keller J., Catala-Lehnen P., Perkovic S., Streichert T., Emeson R.B., Amling M., Schinke T. 2008:

The role of calcitonin and α -calcitonin gene-related peptide in bone formation.

Arch. Biochem. Biophys. **473**, 210-217

Huang W., Chung U., Kronenberg H.M., de Crombrughe B. 2001:

The chondrogenic transcription factor Sox9 is a target of signaling by the parathyroid hormone-related peptide in the growth plate of enchondral bones.

Proc. Natl. Acad. Sci. **98**, 160-165

Hunt R.J. 2000:

Management of angular limb deformities.

AAEP Proceedings **46**, 128-129

Hunter D.J., LaValley M., Li J., Bauer D.C., Nevitt M., DeGroot J., Poole R., Eyre D., Guermazi A., Gale D., Totterman S., Felson D.T. 2008:

Biochemical markers of bone turnover and their association with bone marrow lesions.

Arthritis Res. Ther. **10**, R102; Epub 2008 Aug 29

Hüttenmoser D. 2007:

Einfluss der Alpengang auf den Knochenstoffwechsel bei wachsenden Schafen.

Dissertation Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Irie T., Aizawa T., Kokubun S. 2005 :

The role of sex hormones in the kinetics of chondrocytes in the growth plate.

J. Bone Joint Surg. **87-B**, 1278-1284

- Jackson B.F., Blumsohn A., Goodship A.E., Wilson A.M., Price J.S.** 2003 a:
Circadian variation in biochemical markers of bone cell activity and insulin-like growth factor-I in two-year-old horses.
J. Anim. Sci. **81**, 2804-2810
- Jackson B.F., Lonnell C., Verheyen K., Wood J.L.N., Pfeiffer D.U., Price J.S.** 2003 b:
Gender differences in bone turnover in 2-year-old thoroughbreds.
Equine Vet. J. **35**, 702-706
- Jämsä T., Koivukangas A., Kippo K., Hannuniemi R., Jalovaara P., Tuukkanen J.** 2000:
Comparison of radiographic and pQCT analysis of healing rat tibial fractures.
Calcif. Tissue Int. **66**, 288-291
- Jansson N., Ducharme N.G.** 2005:
Angular limb deformities in foals: Treatment and prognosis.
Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. **27**, 134-145
- Jeffcott L.B., Buckingham S.H.W., McCarthy R.N., Cleeland J.C., Scotti E.**, 1988:
Non-invasive measurement of bone: A review of clinical and research applications in the horse.
Equine Vet. J. Suppl. **6**, 71-79
- Jemtland R., Divieti P., Lee K., Segre G.V.** 2003 :
Hedgehog promotes primary osteoblast differentiation and increases PTHrP mRNA expression and iPTHrP secretion.
Bone **32**, 611-620
- Jenkins D.H.R., Cheng D.H.F. Hodgson A.R.** 1975:
Stimulation of bone growth by periosteal stripping.
J. Bone Joint Surg. **B-57**, 482-484
- Jergas M., Schmid G.** 1999:
Konventionelle Radiologie der Osteoporose und Röntgenabsorptiometrie.
Radiologie **39**, 174-185
- Junqueira L.C., Carneiro J.** 1996:
Histologie.
4. Aufl. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo
- Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O.** 1998:
Basic histology.
8th edn. Appleton & Lange, Stamford/Connecticut, USA
- Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O.** 2002:
Histologie.
5. Aufl. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo
- Juul A.** 2001:
The effects of oestrogens on linear bone growth.
Hum. Reprod. Update **7**, 303-313

Karlsson K.M., Karlsson C., Ahlborg H.G., Valdimarsson O., Ljunghall S., Obrant K.J. 2003:

Bone turnover responses to changed physical activity.

Calcif. Tissue Int. **72**, 675-680

Kember N.F. 1971:

Cell population kinetics of bone growth: The first ten years of autoradiographic studies with tritiated thymidine.

Clin. Orthop. **76**, 213-230

Kishida Y., Hirao M., Tamai N., Nampei A., Fujimoto T., Nakase T., Shimizu N., Yoshikawa H., Myoui A. 2005:

Leptin regulates chondrocyte differentiation and matrix maturation during enchondral ossification.

Bone **37**, 607-621

Kobayashi T., Soegiarto D.W., Yang Y., Lanske B., Schipani E., McMahon A.P., Kronenberg H.M. 2005:

Indian hedgehog stimulates periarticular chondrocyte differentiation to regulate growth plate length independently of PTHrP.

J. Clin. Invest. **115**, 1734-1742

Kong S.Y., Stabler T.V., Griscione L.G., Elliot A.L., Jordan J.M., Kraus V.B. 2006:

Diurnal variations of serum and urine biomarkers in patients with radiographic knee osteoarthritis.

Arthritis Rheum. **54**, 2496-2504

Kronenberg H.M. 2003:

Developmental regulation of the growth plate.

Nature **423**, 332-336

Kronfeld D.S., Meacham T.N., Donoghue S. 1990:

Dietary aspects of developmental orthopaedic diseases in young horses.

Vet. Clin. N. Am. Equine Pract. **6**, 451-466

Kume K., Satomura K., Nishisho S., Kitaoka E., Yamanouchi K., Tobiume S., Nagayama M. 2002:

Potential role of leptin in enchondral ossification.

J. Histochem. Cytochem. **50**, 159-169

Lampe P., Strittmatter C., Amsler U., Nguyen T., Chmid P., Wiesner W. 2007:

Magnetresonanztomographie (MRT - MRI)

Tesla Society Schweiz, www.teslasociety.ch

Lavery S., Ionescu M., Marcoux M., Bouré L., Doizé B., Poole A.R. 2000:

Alterations in cartilage type-II procollagen and aggrecan contents in synovial fluid in equine osteochondrosis.

J. Orthop. Res. **18**, 399-405

Lavigne P., Benderdour M., Lajeunesse D., Reboul P., Shi Q., Pelletier J-P. Martel-Pelletier J., Fernandes J.C. 2005:

Subchondral and trabecular bone metabolism regulation in canine experimental knee osteoarthritis.

Osteoarthritis Cartilage **13**, 310-317

Lee D.C., Gilsanz V., Wren A.L. 2007:

Limitations of peripheral quantitative computed tomography metaphyseal bone density measurements.

J. Clin. Endocrinol. Metab. **92**, 4248-4253

Leeming D.J., Alexandersen P., Karsdal M.A., Qvist P., Schaller S., Tankó L.B. 2006:

An update on biomarkers of bone turnover and their utility in biomedical research and clinical practice.

Eur. J. Clin. Pharmacol. **62**, 781-792

Lepage O.M., Marcoux M., Tremblay A. 1990:

Serum osteocalcin or bone gla protein, a biochemical marker for bone metabolism in horses: Differences in serum levels with age.

Can. J. Vet. Res. **54**, 223-226

Lepage O.M., Des Côteaux L., Marcoux M., Tremblay A. 1991:

Circadian rhythms of osteocalcin in equine serum. Correlation with alkaline phosphatase, calcium, phosphate and total protein levels.

Can. J. Vet. Res. **55**, 5-10

Lepage O.M., Marcoux M., Tremblay A., Dumas G. 1992:

Sex does not influence serum osteocalcin levels in standardbred horses of different ages.

Can. J. Vet. Res. **56**, 379-381

Lepage O.M., Eicher R., Uebelhart B., Tschudi P. 1997:

Influence of type and breed of horse on serum osteocalcin concentration, and evaluation of the applicability of a bovine radioimmunoassay and a human immunoradiometric assay to measure the hormone.

Am. J. Vet. Res. **58**, 574-577

Lepage O.M., Hartmann D.J., Eicher R., Uebelhart B., Tschudi P., Uebelhart D. 1998:

Biochemical markers of bone metabolism in draught and warmblood horses.

Vet. J. **156**, 169-175

Lepage O.M., Carstanjen B., Uebelhart D. 2001:

Non-invasive assessment of equine bone: An update.

Vet. J. **161**, 10-23

Lespessailles E., Chappard C., Bonnet N., Benhamou C.L., 2006:

Imaging techniques for evaluating bone microarchitecture.

Joint Bone Spine **73**, 254-261

Lewiecki E.M., Laster A.J. 2006:

Clinical review: Clinical applications of vertebral fracture assessment by dual-energy x-ray absorptiometry.

J. Clin. Endocrinol. Metab. **91**, 4215-4222

Liesegang A. 1997:

Deoxypyridinolin im Harn und carboxyterminales Telopeptid des Typ I Kollagens (ICTP) in Serum im Vergleich zu Hydroxyprolin im Harn als Knochenmarker bei der Hypokalzämie der Milchkuh.

Dissertation Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Liesegang A., Sassi M.-L., Risteli J., Eicher R., Wanner M., Riond J.-L. 1998:

Comparison of bone resorption markers during hypocalcemia in dairy cows.

J. Dairy Sci. **81**, 2614-2622

Liesegang A. 2000:

Anwendung von Knochenmarkern in der Veterinärmedizin.

Schweiz. Arch. Tierheilk. **142**, 613-623

Liesegang A., Sassi M.-L., Risteli J. 2003 :

Diurnal variation in concentrations of various markers of bone metabolism in growing female goats and sheep.

Animal Sci. **77**, 197-203

Liesegang A., Risteli J. 2005 :

Influence of different calcium concentrations in the diet on bone metabolism in growing dairy goats and sheep.

J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **89**, 113-119

Liesegang A., Risteli J., Wanner M. 2006:

The effects of first gestation and lactation on bone metabolism in dairy goats and milk sheep.

Bone **38**, 794-802

Liesegang A., Risteli J., Wanner M. 2007:

Bone metabolism of milk goats and sheep during second pregnancy and lactation in comparison to first lactation.

J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **91**, 217-225

Lill C. A., Fluegel A.K., Schneider E. 2002:

Effect of ovariectomy, malnutrition and glucocorticoid application on bone properties in sheep: A pilot study.

Osteoporos. Int. **13**, 480-486

Link T.M., Majumdar S., Grampp S., Guglielmi G., van Kuijk C., Imhof H., Glueer C., Adams J.E. 1999:

Musculoskeletal radiology.

Eur. Radiol. **9**, 1781-1788

Loch L. 2004:

Einfluss von Phytase auf den Knochenstoffwechsel von Zuchtsauen im Wachstum bis zur ersten Laktation.

Dissertation Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Lu Y., Markel M.D., Swain C., Kaplan L.D. 2006:

Development of partial thickness articular cartilage injury in an ovine model.

J. Orthop. Res. **24**, 1974-1982

MacLean H.E., Kronenberg H.M. 2005:

Localization of indian hedgehog and PTH/PTHrP receptor expression in relation to chondrocyte proliferation during mouse bone development.

Develop. Growth Differ. **47**, 59-63

Maeda Y., Nakamura E., Nguyen M-T., Suva L.J., Swain F.L., Razzaque M. S., Mackem S., Lanske B. 2007:

Indian hedgehog produced by postnatal chondrocytes is essential for maintaining a growth plate and trabecular bone.

Proc. Natl. Acad. Sci. **104**, 6382-6387

Majumdar S. 2008:

Magnetic resonance imaging for osteoporosis.

Skeletal Radiol. **37**, 95-97

Maor G., Segev Y., Phillip M. 1999:

Testosterone stimulates insulin-like growth factor-I-receptor gene expression in the mandibular condyle – a model of enchondral ossification.

Endocrinology **140**, 1901-1910

Mazess R.B., Barden H.S., Bisek J.P., Hanson J. 1990:

Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition.

Am. J. Clin. Nutr. **51**, 1106-1112

Meier C., Seibel M.J. 2007:

Biochemische Knochenumbau-marker bei Knochenmetastasen.

Onkologie **5**, 34-39

Merriman H.L., van Wijnen A.J., Hiebert S., Bidwell J.P., Fey E., Lian J., Stein J., Stein G.S. 1995:

The tissue-specific nuclear matrix protein, NMP-2, is a member of the AML/CBF/PEBP2/*Runt Domain* transcription factor family: Interactions with the osteocalcin gene promotor.

Biochemistry **34**, 13125-13132

Minina E., Kreschel C., Naski M.C., Ornitz D.M., Vortkamp A. 2002:

Interaction of FGF, Ihh/PthIh, and BMP signalling integrates chondrocyte proliferation and hypertrophic differentiation.

Dev. Cell **3**, 439-449

Minina E., Wenzel H.M., Kreschel C., Karp S., Gaffield W., McMahon A.P., Vortkamp A. 2001:

BMP and Ihh/PTHrP signalling interact to coordinate chondrocyte proliferation and differentiation.

Development **128**, 4523-4534

Mitten L.A., Bramlage L.R., Embertson R.M. 1995:

Racing performance after hemicircumferential periosteal transection for angular limb deformities in thoroughbreds: 199 cases (1987-1989).

J. Am. Vet. Med. Assoc. **207**, 746-750

Moss D.W. 1992:

Perspectives in alkaline phosphatase research.

Clin. Chem. **38**, 2486-2492

Moure A., Reichmann P., Gamba H.R., 2003:

Dual photon absorptiometry using a gadolinium-153 source applied to measure equine bone mineral content.

Phys. Med. Biol. **48**, 3851-3863

Muller M., Mitton D., Moilanen P., Bousson V., Talmant M., Laugier P. 2008:

Prediction of bone mechanical properties using QUS and pQCT: Study of the human distal radius.

Med. Eng. Phys. **30**, 761-767

Murakami S., Kan M., McKeenhan W.L., de Crombrughe B. 2000:

Up-regulation of the chondrogenic *Sox9* gene by fibroblast growth factors is mediated by the mitogen-activated protein kinase pathway.

Proc. Natl. Acad. Sci. **97**, 1113-1118

Newitt D.C., Majumdar S., van Rietbergen B., von Ingersleben G., Harris S.T., Genant H.K., Chesnut C., Garnero P., MacDonald B. 2002:

In vivo assessment of architecture and micro-finite element analysis derived indices of mechanical properties of trabecular bone in the radius.

Osteoporos. Int. **13**, 6-17

Nickel R., Schummer A., Wille K.-H., Wilkens H. 2004:

Passiver Bewegungsapparat, Skelettsystem.

In: Nickel R., Schummer A., Seiferle E.:

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere; Band 1 Bewegungsapparat

Parey Verlag Stuttgart, Deutschland, pp 15-26

Nicodemo M.L.F., Scott D., Buchan W., Duncan A., Robins S.P. 1999:

Effects of variations in live weight gain on bone growth and composition and on markers of bone turnover in lambs.

Exp. Physiol. **84**, 579-587

Nilsson O., Marino R., De Luca F., Philipp M., Baron J. 2005:

Endocrine regulation of the growth plate.

Horm. Res. **64**, 157-165

Njeh C.F., Boivin C.M., Langton C.M. 1997:

The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis: A review.
Osteoporosis Int. **7**, 7-22

Nunamaker D.M. 1998:

Experimental models of fracture repair.
Clin. Orthop. Relat. Res. **335 Suppl.**, 56-65

OSTEOmedical Group 2008:

Review biochemical Marker: Knochen- und Knorpel Stoffwechsel.
www.teco-medical.ch

Ott E.A., Asquith R.L. 1989:

The influence of mineral supplementation on growth and skeletal development of yearling horses.
J Anim. Sci. **67**, 2831-2840

Ott E.A., Brown M.P., Roberts G.D., Kivipelto J. 2005:

Influence of starch intake on growth and skeletal development of weanling horses.
J. Anim. Sci. **83**, 1033-1043

Parthemore J.G., Burton D.W., Deftos L.J. 1993:

Associations and dissociations between serum bone gla protein and alkaline phosphatase in skeletal metabolism.
J. Orthop. Res. **11**, 671-676

Pastoret V., Carstanjen B., Lejeune J.-P., Farnir F., Remy B., Reginster J.-Y., Sertyn D., Gabriel A. 2007:

Evaluation of serum osteocalcin and CTX-I in ardenner horses with special reference to juvenile interphalangeal joint disease.
J. Vet. Med. A. **54**, 458-463

Pastoureau P., Meunier P.J., Delmas P.D. 1991:

Serum osteocalcin (bone gla-protein), an index of bone growth in lambs. Comparison with age-related histomorphometric changes.
Bone **12**, 143-149

Penzlin, H. 2005:

Calciumhaushalt.
In: Lehrbuch der Tierphysiologie.
Spektrum Akademischer Verlag, München, Deutschland, pp 517-518

Petersen W., Tsokos M., Pufe T. 2002:

Eypression of VEGF121 and VEGF165 in hypertrophic chondrocytes of the human growth plate and epiphyseal cartilage.
J. Anat. **201**, 153-157

Pfander D., Körtje D., Zimmermann R., Weseloh G., Kirsch T., Gesslein M., Cramer T., Swoboda B. 2001:

Vascular endothelial growth factor in articular cartilage of healthy and osteoarthritic human knee joints.

Ann. Rheum. Dis. **60**, 1070-1073

Pfeilschifter J. 2001:

Rationale und rationelle Osteoporoseprophylaxe und -therapie.

Internist **43**, 554-562

Pogoda P., Egermann M., Schnell J.C., Priemel M., Schilling A.F., Alini M., Schinke T., Rueger J.M., Schneider E., Clarke I., Amling M. 2006:

Leptin inhibits bone formation not only in rodents, but also in sheep.

J. Bone Miner. Res. **21**, 1591-1599

Poole A.R. 2003:

Biochemical/immunochemical biomarkers of osteoarthritis: utility for prediction of incident or progressive arthritis.

Rheum. Dis. Clin. N. Am. **29**, 803-818

Prevrhal S., Genent H.K. 1999:

Quantitative Computertomographie.

Radiologie **39**, 194-202

Price J.S., Jackson B., Eastell R., Goodship A.E., Blumsohn A., Wright I., Stoneham S., Lanyon L.E., Russell R.G.G. 1995:

Age related changes in biochemical markers of bone metabolism in horses.

Equine Vet. J. **27**, 201-207

Price J.S. 1998:

Biochemical markers of bone metabolism in horses: Potentials and limitations?

Vet. J. **156**, 163-165

Price J.S., Jackson B.F., Gray J.A., Harris P.A., Wright I.M., Pfeiffer D.U., Robins S.P., Eastell R., Ricketts S.W., 2001:

Biochemical markers of bone metabolism in growing thoroughbreds: a longitudinal study.

Res. Vet. Sci. **71**, 37-44

Price P.A., Baukol S.A. 1980:

1,25-dihydroxyvitamin D₃ increases synthesis of the vitamin K-dependent bone protein by osteosarcoma cells.

J. Biol. Chem. **255**, 11660-11663

Prosser D.E., Jones G. 2004:

Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D.

Trends Biochem. Sci. **29**, 664-673

Provot S., Schipani E. 2005:

Molecular mechanism of endochondral bone development.

Biochem. Biophys. Res. Commun. **328**, 658-665

Read E.K., Read M.R., Clark C.W., Pharr J.W., Wilson D.G. 2001:

An evaluation of hemicircumferential periosteal transection and elevation in an angular limb deformity model.

AAEP Proceedings **47**, 478-479

Read E.K., Read M.R., Townsend H.G., Clark C.R., Pharr J.W., Wilson D.G. 2002:

Effect of hemi-circumferential periosteal transection and elevation in foals with experimentally induced angular limb deformities.

J. Am. Vet. Med. Assoc. **221**, 536-540

Reiter K., Bessei W. 1998:

Einfluss der Laufaktivität auf die Knochenentwicklung und Beinschäden bei Broilern.

Arch. Geflügelk. **62**, 247-253

Richart T., Li Y., Staessen J.A. 2007:

Renal versus extrarenal activation of vitamin D in relation to atherosclerosis, arterial stiffening, and hypertension.

Am. J. Hypertens. **20**, 1007-1015

Risteli L., Risteli J. 1993:

Biochemical markers of bone metabolism.

Ann. Med. **25**, 385-393

Robson H., Siebler T., Stevens D.A., Shalet S.M., Williams G.R. 2000:

Thyroid hormone acts directly on growth plate chondrocytes to promote hypertrophic differentiation and inhibit clonal expansion and cell proliferation.

Endocrinology **141**, 3887-3897

Rodd C., Jordain N., Alini M. 2003:

Action of estradiol on epiphyseal growth plate chondrocytes.

Calcif. Tissue Int. **75**, 214-224

Rosenquist C., Fledelius C., Christgau S., Pedersen B.J., Bonde M., Qvist P., Christiansen C. 1998:

Serum crosslaps one step ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation product from C-terminal telopeptides of type I collagen.

Clin. Chem. **44**, 2281-2289

Roughead Z.K., Lukaski H.C. 2003:

Inadequate copper intake reduces serum insulin-like growth factor-I and bone strength in growing rats fed graded amounts of copper and zinc.

J. Nutr. **133**, 442-448

Rubin C.-J., Brädström H., Wright D., Kerje S., Gunnarsson U., Schutz K., Fredriksson R., Jensen P., Andersson L., Ohlsson C., Mallmin H., Larsson S., Kindmark A. 2007:

Quantitative trait loci for BMD and bone strength in an intercross between domestic and wildtype chickens.

J. Bone Miner. Res. **22**, 375-384

Savage C.J., McCarthy R.N., Jeffcott L.B. 1993:

Effects of dietary energy and protein on induction of dyschondroplasia in foals.
Equine Vet. J. Suppl. **16**, 74-79

Schönau E., Rauch F. 1997:

Markers of bone and collagen metabolism – problems and perspectives in pediatrics.
Horm. Res. **48** Suppl., 50-59

Schorlemmer S., Gohl C., Iwabu S., Ignatius A., Claes L., Augat P. 2003:

Glucocorticoid treatment of ovariectomized sheep affects mineral density, structure, and mechanical properties of cancellous bone.
J. Bone Miner. Res. **18**, 2010-2015

Schorlemmer S., Ignatius A., Claes L., Augat P. 2005:

Inhibition of cortical and cancellous bone formation in glucocorticoid-treated OVX sheep.
Bone **37**, 491-496

Schryver H.F., Meakim D.W., Lowe J.E., Williams J., Soderholm L.V., Hintz H.F. 1987:

Growth and calcium metabolism in horses fed varying levels of protein.
Equine Vet. J. **19**, 280-287

Scott D., Abu Damir H., Buchan W., Duncan A., Robins S.P. 1993:

Factors affecting urinary pyridinoline and deoxypyridinoline excretion in the growing lamb.
Bone **14**, 807-811

Scott D., Robins S.P., Nicol P., Chen X.B., Buchan W. 1994:

Effects of low phosphate intake on bone mineral metabolism and microbial protein synthesis in lambs.
Exp. Physiol. **79**, 183-187

Scotti E., Jeffcott L.B. 1988:

The hock as a potential site for non-invasive bone measurement.
Equine Vet. J. Suppl. **6**, 93-98

Seibel M.J., Lang M., Geilenkeuser W.-J. 2001:

Interlaboratory variation of biochemical markers of bone turnover.
Clin. Chem. **47**, 1443-1450

Seibel M.J. 2005:

Biochemical markers of bone turnover. Part I : Biochemistry and Variability.
Clin. Biochem. Rev. **26**, 97-122

Seibel M.J. 2006:

Clinical application of biochemical markers of bone turnover.
Arq. Bras. Endocrinol. Metab. **50**, 603-620

Semevolos S.A., Brower-Toland B.D., Bent S.J., Nixon A.J. 2002:

Parathyroid hormone-related peptide and indian hedgehog expression patterns in naturally acquired equine osteochondrosis.
J. Orthop. Res. **20**, 1290-1297

- Semevolos S.A., Nixon A.J., Fortier L.A., Strassheim M.L., Haupt J.** 2006:
Age-related expression of molecular regulators of hypertrophy and maturation in articular cartilage.
J. Orthop. Res. **24**, 1773-1781
- Shao Y.Y., Wang L., Ballock R.T.** 2006:
Thyroid hormone and the growth plate.
Rev. Endocr. Metab. Disord. **7**, 265-271
- Shimizu H., Yokoyama S., Asahara H.** 2007:
Growth and differentiation of the developing limb bud from the perspective of chondrogenesis.
Develop. Growth Differ. **49**, 449-454
- Silfverswärd C.-J., Larsson S., Ohlsson C., Frost A., Nilsson O.** 2007:
Reduced cortical bone mass in mice with inactivation of Interleukin-4 and Interleukin-13.
J. Orthop. Res. **25**, 725-731
- Silvestrini G., Ballanti P., Patacchioli F.R., Moretti P., Di Grezia R., Martin Wedard B., Angelucci L., Bonucci E.** 2000:
Evaluation of apoptosis and the glucocorticoid receptor in the cartilage growth plate and metaphyseal bone cell of rats after high-dose treatment with corticosterone.
Bone **26**, 33-42
- Siu W.S., Qin L., Leung K.S.**, 2003:
pQCT bone strength index may serve as a better predictor than bone mineral density for long bone breaking strength.
J. Bone Miner. Metab. **21**, 316-322
- Skoumal M., Klaushofer K., Haberhauer G.** 2007:
COMP – ein selektiver Knorpelmarker.
IGeL aktiv **2**, 16-23
- Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M.M., Mol J.A., Barneveld A.** 1999:
Hormones, growth factors and other plasma variables in relation to osteochondrosis.
Equine Vet. J. Suppl. **31**, 45-54
- Slone D.E., Roberts C.T., Hughes F.E.** 2000:
Restricted exercise and transphyseal bridging for correction of angular limb deformities.
AAEP Proceedings **46**, 126-127
- Steiger R., Geyer H., Provencher A., Perron-Lepage M.-F., von Salis B., Lepage O.M.** 1999:
Equine bone core biopsy: Evaluation of collection sites using a new electric drilling machine.
Equine Pract. **21**, 14-21
- Stevens D.A., Williams G.R.** 1999:
Hormone regulation of chondrocyte differentiation and enchondral bone formation.
Mol. Cell. Endocrinol. **151**, 195-204

Stryer L. 1990:

Bindegewebsproteine.

In: Biochemie.

Spektrum-der-Wissenschaft-Verlagsgesellschaft, Heidelberg, Deutschland, pp 282-284

Swaminathan R. 2001:

Biochemical markers of bone turnover.

Clin. Chim. Acta **313**, 95-105

Swennen G.R.J., Eulzer C., Schutyser F., Hüttmann C., Schliephake H. 2005:

Assessment of the distraction regenerate using three-dimensional quantitative computer tomography.

Int. J. Oral Maxillofac. Surg. **34**, 64-73

Tatara M.R. 2008:

Neonatal programming of skeletal development in sheep is mediated by the somatotrophic axis function.

Exp. Physiol. **93**, 763-772

Thomas B.J., Byers S., Johnstone E.W., Foster B.K. 2005:

The effect of recombinant human osteogenic protein-1 on growth plate repair in a sheep model.

J. Orthop. Res. **23**, 1336-1344

Trivedi P., Hindmarsh P., Risteli J., Risteli L., Mowat A.P., Brook C.G.D. 1989:

Growth velocity, growth hormone therapy, and serum concentrations of the amino-terminal propeptide of type III procollagen.

J. Pediatr. **114**, 225-230

Trivedi P., Risteli J., Risteli L., Hindmarsh P.C., Brook C.G.D., Mowat A.P. 1991:

Serum concentrations of the type I and III procollagen propeptides as biochemical markers of growth velocity in healthy infants and children and in children with growth disorders.

Pediatr. Res. **30**, 276-280

Trumble T.N., Brown M.P., Merritt B.S., Billingham R.C. 2008:

Joint dependent concentrations of bone alkaline phosphatase in serum and synovial fluids of horses with osteochondral injury: An analytical and clinical validation.

Osteoarthritis Cartilage **16**, 779-786

Tryfonidou M.A., Holl M.S., Vastenurg M., Oosterlaken-Dijksterhuis M.O., Birkenhäger-Frenkel D.H., van den Brilm W.E., Hazewinkel H.A.W. 2003:

Hormonal regulation of calcium homeostasis in two breeds of dogs during growth at different rates.

J. Anim. Sci. **81**, 1568-1580

Tsiridis E., Morgan E.F., Bancroft J.M., Song M., Kain M., Gerstenfeld L., Einhorn T.A., Bouxsein M.L., Ill P. T. 2007:

Effects of OP-1 and PTH in a new experimental model for the study of metaphyseal bone healing.

J. Orthop. Res. **25**, 1193-1203

Van der Eerden B.C.J., Karperien M., Wit J.M. 2003:

Systemic and local regulation of the growth plate.

Endocr. Rev. **24**, 782-801

Van Straalen J.P., Sanders E., Prummel M.F., Sanders G.T.B. 1991:

Bone-alkaline phosphatase as indicator of bone formation.

Clin. Chim. Acta **201**, 27-34

Vervuert I., Winkelsett S., Christmann L., Bruns E., Hoppen H-O., Distl O., Hertsch B., Coenen M. 2007:

Evaluation of the influences of exercise, birth date, and osteochondrosis on plasma bone marker concentrations in Hanoverian Warmblood foals.

Am. J. Vet. Res **68**, 1319-1323

Vortkamp A., Kaechoong L., Lanske B., Segre G.V., Kronenberg H.M., Tabin C.J. 1996:

Regulation of rate of cartilage differentiation by indian hedgehog and PTH-related protein.

Science **273**, 613-621

Vortkamp A. 2006:

Regulation der Chondrozytendifferenzierung in der Wachstumsfuge: Parakrine Signalsysteme.

In: Ganten D., Ruckpaul K. (Hrsg.):

Molekularmedizinische Grundlagen von para- und autokrinen Regulationsstörungen.

Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Deutschland, pp 461-477

Weise M., De-Levi S., Barnes K.M., Gafni R.,I., Abad V., Baron J. 2001 :

Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA **98**, 6871-6876

Wilde G.P., Baker G.C.W. 1987:

Circumferential periosteal release in the treatment of children with leg-length inequality.

J. Bone Joint Surg. **B-69**, 817-821

Willenbrink H.-J., Struck K. 1998:

Apparative und bildgebende Verfahren in der Diagnostik (chronischer) Schmerzsymptome.

Schmerz **12**, 212-222

Woitge H.W., Fohr B., Seibel M.J. 2001:

Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels bei sekundären Osteopathien.

Akt. Rheumatol. **26**, 115-128

Wu W., Billingham R.C., Pidoux I., Antoniou J., Zukor D., Tanzer M., Poole A.R. 2002:

Sites of collagenase cleavage and denaturation of type II collagen in aging and osteoarthritic articular cartilage and their relationship to the distribution of matrix metalloproteinase 1 and matrix metalloproteinase 13.

Arthritis Rheum. **46**, 2087-2094

Wüster C., Pourfard J., Lüttje D., Kneer W., Hadji P. 2001:

Osteodensitometrie. Neue Wege in der Osteoporosediagnostik?

Gynäkologie **34**, 841-847

Wüster C., Gühring T., Sillem M., Hadji P. 2003:

Momentaufnahme des Knochens.

Gynäkologie und Geburtshilfe **3**, 1-5

Yoshida C.A., Yamamoto H., Fujita T., Furuichi T., Ito K., Inoue K., Yamana K., Zanna A., Takada K., Ito Y., Komori T. 2004:

Runx2 and Runx3 are essential for chondrocyte maturation, and Runx2 regulates limb growth induction of Indian Hedgehog.

Genes Dev. **18**, 952-963

Zhou Y., Bixiong C.X., Maheshwari H.G., He L., Reed M., Lozykowski M., Okada S., Cataldo L., Coschigamo K., Wagner T.E., Baumann G., Kopchick J.J. 1997:

A mammalian model for Laron syndrome produced by targeted disruption of the mouse growth hormone receptor / binding protein gene (the Laron mouse).

Proc. Natl. Acad. Sci. USA **94**, 13215-13220

8. Anhang

Tabelle 9: 1,25(OH)₂ Vitamin D-Konzentrationen im Serum der Lämmer (Angaben in pg/ml).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Lämmer	90.99 ± 11.52	93.31 ± 13.98	70.67 ± 9.34	70.46 ± 10.14	55.24 ± 8.95	62.42 ± 7.31	60.61 ± 7.82
Kontrolltiere	93.71 ± 9.86	109.61 ± 10.05	94.73 ± 11.04	82.39 ± 8.83	68.09 ± 11.26	63.46 ± 6.85	56.37 ± 6.23

Tabelle 10: Osteocalcin (OC)-Konzentrationen ± STE im Serum der Lämmer (Angaben in ng/ml).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Lämmer	92.35 ± 26.80	101.46 ± 26.45	82.70 ± 38.83	76.43 ± 39.36	61.67 ± 30.86	62.94 ± 13.78	58.49 ± 15.53
Kontrolltiere	92.35 ± 24.80	101.46 ± 32.73	82.70 ± 28.25	76.43 ± 28.04	61.67 ± 26.01	62.94 ± 24.11	58.49 ± 6.80

Tabelle 11: Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bAP) ± STE im Serum der Lämmer (Angaben in U/l).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Lämmer	87.34 ± 6.41	73.26 ± 4.95	71.49 ± 4.60	73.83 ± 5.68	81.83 ± 4.93	88.18 ± 4.98	97.81 ± 5.96
Kontrolltiere	93.63 ± 8.12	82.57 ± 6.20	83.42 ± 4.34	81.63 ± 3.96	81.15 ± 5.15	78.80 ± 8.12	74.99 ± 6.55

Tabelle 12: Konzentrationen des quervernetzten carboxyterminalen Telopeptides des Typ-I-Kollagens (ICTP) ± STE im Serum der Lämmer (Angaben in µg/l).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Lämmer	26.33 ± 1.39	26.51 ± 1.31	23.96 ± 1.03	22.91 ± 1.23	21.57 ± 1.40	22.11 ± 0.93	22.62 ± 1.03
Kontrolltiere	27.88 ± 0.99	25.94 ± 0.94	24.21 ± 1.09	22.58 ± 0.51	21.08 ± 1.05	22.96 ± 1.29	22.79 ± 1.54

Tabelle 13: Konzentrationen des Carboxyterminalen Telopeptid-Fragmentes von Typ-I-Kollagen (CTX-I) ± STE im Serum der Lämmer (Angaben in pmol/l).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Lämmer	7314.5 ± 560.4	6624.75 ± 265.0	6214 ± 365.6	6462 ± 450.3	6562.75 ± 301.1	6190.75 ± 359.0	6454.25 ± 330.7
Kontrolltiere	6601.5 ± 454.6	6485.25 ± 432.2	6167.5 ± 303.2	6477.5 ± 354.3	6198.5 ± 468.1	6919.25 ± 460.4	6601.5 ± 468.1

Tabelle 14: Konzentrationen des Prokollagen II C-Propeptides (CPII) ± STE im Serum der Lämmer (Angaben in ng/ml).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Lämmer	1345.96 ± 50.65	1634.45 ± 56.67	2009.64 ± 59.35	2167.50 ± 136.72	2101.76 ± 76.80	2460.97 ± 165.16	2805.44 ± 166.90
Kontrolltiere	1528.94 ± 81.32	1737.78 ± 121.59	2001.28 ± 103.53	2233.18 ± 105.96	2470.39 ± 207.84	2686.22 ± 144.37	2551.88 ± 212.39

Tabelle 15: Verlauf der Konzentrationen des C-terminalen Telopeptides von Typ-II-Kollagen (CTX-II) \pm STE im Serum der Lämmer (Angaben in pg/ml).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Lämmer	534.32 \pm 34.48	443.18 \pm 18.87	423.14 \pm 28.47	393.19 \pm 21.84	419.65 \pm 18.73	369.49 \pm 20.38	402.50 \pm 15.26
Kontrolltiere	634.08 \pm 21.54	565.95 \pm 7.70	521.28 \pm 34.28	470.23 \pm 35.19	426.09 \pm 45.16	429.01 \pm 46.25	432.63 \pm 43.74

Tabelle 16: 1,25(OH)₂ Vitamin D-Konzentrationen im Serum der Fohlen (Angaben in pg/ml).

Gruppe	Tag 0	Tag 10	Tag 21/22
operierte Fohlen	14.24 \pm 1.47	20.2 \pm 1.64	24.23 \pm 2.01
Kontrolltiere	18.51 \pm 4.26	21.04 \pm 3.92	23.18 \pm 1.89

Tabelle 17: Osteocalcin (OC)-Konzentrationen \pm STE im Serum der Fohlen (Angaben in ng/ml).

Gruppe	Tag 0	Tag 10	Tag 21/22
operierte Fohlen	136.09 \pm 16.77	142.63 \pm 11.91	145.56 \pm 16.39
Kontrolltiere	183.67 \pm 23.65	148.03 \pm 16.42	154.95 \pm 7.31

Tabelle 18: Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bAP) \pm STE im Serum der Fohlen (Angaben in U/l).

Gruppe	Tag 0	Tag 10	Tag 21/22
operierte Fohlen	381.53 \pm 59.83	304.71 \pm 40.18	309.13 \pm 32.77
Kontrolltiere	367.05 \pm 12.51	356.65 \pm 38.55	351.7 \pm 24.38

Tabelle 19: Konzentrationen des quervernetzten carboxyterminalen Telopeptides des Typ-I-Kollagens (ICTP) \pm STE im Serum der Fohlen (Angaben in μ g/l).

Gruppe	Tag 0	Tag 10	Tag 21/22
operierte Fohlen	29.33 \pm 1.24	28.17 \pm 1.71	28.21 \pm 1.04
Kontrolltiere	32.12 \pm 1.30	30.07 \pm 1.79	30.56 \pm 0.89

Tabelle 20: Konzentrationen des Carboxyterminalen Telopeptid-Fragmentes von Typ-I-Kollagen (CTX-I) \pm STE im Serum der Fohlen (Angaben in pmol/l).

Gruppe	Tag 0	Tag 10	Tag 21/22
operierte Fohlen	1719 \pm 386.24	1672.5 \pm 372.30	1626 \pm 378.62
Kontrolltiere	1393.5 \pm 301.30	1502 \pm 369.98	1862.375 \pm 274.82

Tabelle 21: Konzentrationen des Prokollagen II C-Propeptides (CPII) \pm STE im Serum der Fohlen (Angaben in ng/ml).

Gruppe	Tag 0	Tag 10	Tag 21/22
operierte Fohlen	2157.19 \pm 276.92	2070.57 \pm 317.35	1994.83 \pm 345.88
Kontrolltiere	2384.95 \pm 349.34	2449.5 \pm 387.86	2814.59 \pm 481.64

Tabelle 22: Verlauf der Konzentrationen des C-terminalen Telopeptides von Typ-II-Kollagen (CTX-II) \pm STE im Serum der Fohlen (Angaben in pg/ml).

Gruppe	Tag 0	Tag 10	Tag 21/22
operierte Fohlen	2833.01 \pm 288.79	2574.326 \pm 144.42	2264.982 \pm 106.44
Kontrolltiere	3298.41 \pm 271.09	2958.5 \pm 317.24	2697.89 \pm 190.19

Tabelle 23: Totale Knochendichte (BMD_{tot}) der Tibia (Angaben in mg/cm³).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	398.99 \pm 7.11	401.43 \pm 18.81	407.35 \pm 11.25	399.67 \pm 12.45	416.76 \pm 14.29	403.86 \pm 12.77	440.44 \pm 13.61
kontralaterale nicht op GM	403.17 \pm 9.47	396.81 \pm 6.01	396.74 \pm 13.38	407.41 \pm 10.17	409.28 \pm 11.30	420.66 \pm 14.59	438.97 \pm 14.40
nicht operierte Kontrolltiere	418.37 \pm 13.47	399.45 \pm 12.35	409.51 \pm 15.93	417.48 \pm 17.20	416.91 \pm 12.24	404.47 \pm 14.54	427.68 \pm 15.18

Tabelle 24: Kortikale Knochendichte (BMD_{cr}) der Tibia (Angaben in mg/cm³).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	531.77 \pm 37.80	493.25 \pm 13.24	491.07 \pm 8.77	490.72 \pm 10.33	501.99 \pm 10.13	491.56 \pm 8.76	519.96 \pm 10.89
kontralaterale nicht op GM	550.24 \pm 37.96	496.52 \pm 11.89	492.79 \pm 10.06	495.93 \pm 8.92	502.74 \pm 11.18	516.36 \pm 11.70	515.43 \pm 12.02
nicht operierte Kontrolltiere	547.28 \pm 40.64	512.02 \pm 34.57	503.93 \pm 12.74	483.00 \pm 13.38	498.10 \pm 12.88	506.40 \pm 13.07	497.50 \pm 14.42

Tabelle 25: Trabekuläre Knochendichte (BMD_{trab}) der Tibia (Angaben in mg/cm³).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	349.51 \pm 8.92	339.59 \pm 20.58	350.09 \pm 13.83	331.88 \pm 20.66	362.13 \pm 17.36	343.25 \pm 19.13	330.57 \pm 10.44
kontralaterale nicht op GM	347.52 \pm 11.05	347.83 \pm 11.81	352.70 \pm 17.55	359.28 \pm 11.54	367.59 \pm 21.63	372.16 \pm 24.64	339.90 \pm 14.20
nicht operierte Kontrolltiere	344.05 \pm 13.47	343.66 \pm 14.97	346.22 \pm 16.16	344.93 \pm 25.49	355.62 \pm 20.19	372.01 \pm 19.66	336.57 \pm 16.45

Tabelle 26: Totaler Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}) der Tibia (Angaben in mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	231.77 ± 10.02	232.13 ± 13.17	231.73 ± 11.94	237.69 ± 11.26	247.72 ± 12.74	245.12 ± 8.29	228.57 ± 8.05
kontralaterale nicht op GM	236.56 ± 11.18	233.51 ± 14.24	235.81 ± 18.52	245.03 ± 12.57	247.01 ± 14.05	238.78 ± 15.16	236.75 ± 8.62
nicht operierte Kontrolltiere	238.22 ± 18.73	221.98 ± 13.79	244.15 ± 21.97	221.85 ± 12.63	236.88 ± 12.72	247.14 ± 16.45	226.86 ± 12.47

Tabelle 27: Kortikaler Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) der Tibia (Angaben in mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	143.77 ± 22.76	174.18 ± 15.89	177.47 ± 11.42	179.42 ± 12.76	196.21 ± 13.10	190.40 ± 10.88	181.25 ± 9.31
kontralaterale nicht op GM	124.19 ± 32.36	178.19 ± 12.95	182.84 ± 17.40	190.14 ± 14.36	192.76 ± 15.20	188.46 ± 16.24	189.22 ± 11.75
nicht operierte Kontrolltiere	173.63 ± 24.96	155.30 ± 19.07	179.03 ± 25.51	164.54 ± 14.60	182.42 ± 14.94	192.93 ± 18.04	177.30 ± 14.27

Tabelle 28: Trabekulärer Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}) der Tibia (Angaben in mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	100.02 ± 7.08	88.37 ± 6.16	90.09 ± 6.17	88.96 ± 6.63	97.14 ± 6.43	93.67 ± 5.22	77.24 ± 3.10
kontralaterale nicht op GM	113.02 ± 9.49	92.22 ± 6.23	94.39 ± 8.08	96.91 ± 4.89	99.48 ± 7.04	95.59 ± 8.36	82.59 ± 4.08
nicht operierte Kontrolltiere	98.61 ± 8.21	87.47 ± 5.66	96.39 ± 8.99	85.95 ± 6.75	93.87 ± 6.31	98.54 ± 7.77	79.06 ± 5.00

Tabelle 29: Totale Knochendichte (BMD_{tot}) des Metatarsus (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	336.47 ± 13.04	334.63 ± 9.82	319.37 ± 8.59	319.41 ± 11.28	327.23 ± 14.76	329.56 ± 11.21	362.92 ± 12.00
kontralaterale nicht op GM	325.79 ± 14.99	323.50 ± 13.45	328.30 ± 13.54	327.06 ± 14.70	325.71 ± 15.58	337.36 ± 14.68	356.66 ± 11.60
nicht operierte Kontrolltiere	332.43 ± 12.22	334.50 ± 13.29	338.37 ± 16.53	333.93 ± 15.46	338.51 ± 19.70	334.88 ± 17.78	363.07 ± 13.85

Tabelle 30: Kortikale Knochendichte (BMD_{crt}) des Metatarsus (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	438.76 ± 9.58	426.56 ± 9.96	407.83 ± 8.04	415.17 ± 6.65	414.23 ± 5.46	426.72 ± 10.24	423.59 ± 8.57
kontralaterale nicht op GM	429.78 ± 9.43	408.18 ± 4.67	410.80 ± 6.46	428.72 ± 8.47	422.86 ± 5.72	421.91 ± 5.26	431.77 ± 6.09
nicht operierte Kontrolltiere	418.91 ± 7.88	425.33 ± 7.56	416.12 ± 7.67	415.37 ± 12.99	439.70 ± 7.50	428.90 ± 12.70	427.90 ± 8.52

Tabelle 31: Trabekuläre Knochendichte (BMD_{trab}) des Metatarsus (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	291.23	298.52	305.54	300.22	312.78	302.52	346.05
Gliedmassen	± 20.21	± 17.55	± 10.81	± 15.35	± 18.60	± 16.76	± 13.86
kontralaterale	283.03	308.65	310.50	290.29	296.23	317.97	340.48
nicht op GM	± 18.10	± 16.28	± 16.83	± 20.78	± 19.01	± 17.54	± 13.11
nicht operierte	323.31	323.74	330.92	313.48	315.05	304.21	356.49
Kontrolltiere	± 18.30	± 17.70	± 18.39	± 16.41	± 21.96	± 18.46	± 16.94

Tabelle 32: Totaler Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}) des Metatarsus (Angaben in mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	121.32	127.09	122.85	122.34	125.26	127.32	147.77
Gliedmassen	± 9.56	± 6.62	± 5.36	± 5.18	± 9.29	± 7.14	± 6.48
kontralaterale	117.01	127.43	128.40	124.36	125.24	134.38	139.61
nicht op GM	± 8.76	± 8.40	± 8.49	± 9.03	± 9.99	± 9.43	± 8.48
nicht operierte	132.68	136.52	136.92	127.85	136.89	126.76	150.84
Kontrolltiere	± 11.03	± 8.98	± 11.48	± 9.10	± 9.67	± 6.79	± 7.79

Tabelle 33: Kortikaler Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) des Metatarsus (Angaben in mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	70.69	68.27	55.83	60.66	66.11	68.09	91.66
Gliedmassen	± 10.41	± 6.95	± 5.36	± 7.06	± 10.60	± 7.62	± 11.14
kontralaterale	58.50	63.98	67.20	70.23	69.70	78.20	86.34
nicht op GM	± 9.63	± 9.59	± 9.79	± 8.87	± 9.90	± 10.95	± 8.72
nicht operierte	67.76	81.07	74.24	66.32	86.41	69.10	90.42
Kontrolltiere	± 14.11	± 8.85	± 13.65	± 10.38	± 8.51	± 10.30	± 10.66

Tabelle 34: Trabekulärer Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}) des Metatarsus (Angaben mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	49.82	51.50	52.86	52.01	53.93	52.73	63.41
Gliedmassen	± 4.98	± 4.30	± 2.64	± 3.98	± 4.68	± 3.92	± 3.22
kontralaterale	47.47	54.81	54.80	50.16	51.53	57.15	60.05
nicht op GM	± 4.50	± 4.15	± 4.33	± 5.15	± 5.05	± 4.70	± 4.02
nicht operierte	57.66	57.03	61.03	55.23	55.46	52.37	66.29
Kontrolltiere	± 5.69	± 4.70	± 4.74	± 4.68	± 5.83	± 3.25	± 3.70

Tabelle 35: Totale Knochendichte (BMD_{tot}) des Radius (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	325.43	331.57	297.62	338.29	306.37	296.55	339.37
Gliedmassen	± 20.16	± 20.01	± 9.94	± 13.62	± 9.33	± 10.45	± 13.75
kontralaterale	314.96	324.87	322.64	316.45	315.43	307.77	337.60
nicht op GM	± 7.37	± 9.38	± 8.10	± 7.38	± 15.22	± 11.74	± 15.63
nicht operierte	323.03	301.24	317.30	312.23	324.61	316.63	338.43
Kontrolltiere	± 11.42	± 10.17	± 11.86	± 9.71	± 11.19	± 8.86	± 10.11

Tabelle 36: Kortikale Knochendichte (BMD_{crt}) des Radius (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	441.02	458.75	427.59	448.64	432.68	437.54	441.78
Gliedmassen	± 14.67	± 16.69	± 2.39	± 12.95	± 8.23	± 13.89	± 8.32
kontralaterale	415.40	428.29	422.22	434.28	438.11	426.34	438.37
nicht op GM	± 4.02	± 5.86	± 8.27	± 11.05	± 7.98	± 7.52	± 13.02
nicht operierte	417.37	452.21	426.77	422.74	438.89	427.50	426.20
Kontrolltiere	± 7.78	± 37.10	± 10.74	± 8.81	± 12.60	± 7.87	± 9.89

Tabelle 37: Trabekuläre Knochendichte (BMD_{trab}) des Radius (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	258.98	256.40	262.53	262.53	229.09	213.36	274.39
Gliedmassen	± 16.62	± 16.50	± 17.64	± 15.96	± 9.38	± 7.81	± 15.26
kontralaterale	263.43	273.04	273.18	245.38	246.82	246.52	265.75
nicht op GM	± 9.65	± 14.42	± 13.58	± 8.97	± 15.41	± 15.94	± 10.80
nicht operierte	256.22	246.08	272.33	234.02	235.10	245.10	280.47
Kontrolltiere	± 13.10	± 12.22	± 21.96	± 16.98	± 12.39	± 15.20	± 15.92

Tabelle 38: Totaler Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}) des Radius (Angaben mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	166.44	168.37	175.55	191.93	180.81	175.61	204.72
Gliedmassen	± 10.02	± 10.46	± 8.00	± 8.60	± 6.14	± 9.46	± 10.03
kontralaterale	170.40	167.73	166.24	177.35	180.42	169.37	202.61
nicht op GM	± 12.21	± 9.23	± 10.71	± 9.98	± 10.74	± 8.37	± 6.78
nicht operierte	202.21	164.72	169.58	168.90	165.22	188.75	201.53
Kontrolltiere	± 16.15	± 13.11	± 15.64	± 13.51	± 10.76	± 12.68	± 12.29

Tabelle 39: Kortikaler Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) des Radius (Angaben mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	87.14	90.85	81.26	112.08	89.94	82.78	119.82
Gliedmassen	± 15.46	± 14.68	± 9.58	± 11.05	± 8.14	± 11.84	± 13.39
kontralaterale	68.34	88.15	82.96	91.62	91.32	81.70	112.32
nicht op GM	± 10.63	± 7.38	± 7.23	± 8.20	± 13.83	± 9.60	± 13.20
nicht operierte	89.17	67.71	85.21	74.99	79.23	95.12	108.30
Kontrolltiere	± 13.93	± 15.06	± 18.19	± 15.66	± 14.45	± 17.75	± 17.31

Tabelle 40: Trabekulärer Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}) des Radius (Angaben mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	59.50	59.11	59.84	67.25	60.63	57.22	74.44
Gliedmassen	± 3.83	± 4.73	± 3.43	± 4.50	± 2.29	± 3.85	± 4.61
kontralaterale	66.86	62.56	61.94	61.76	63.18	60.56	71.77
nicht op GM	± 4.87	± 3.07	± 2.38	± 3.79	± 4.14	± 3.52	± 2.13
nicht operierte	68.45	62.44	64.08	59.93	56.96	66.91	76.10
Kontrolltiere	± 5.55	± 4.93	± 6.35	± 5.85	± 3.22	± 5.03	± 4.42

Tabelle 41: Totale Knochendichte (BMD_{tot}) des Metacarpus (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	327.42	340.36	324.74	343.05	339.49	355.91	357.37
Gliedmassen	± 15.70	± 12.74	± 14.79	± 13.62	± 10.64	± 13.31	± 10.22
kontralaterale	339.81	334.11	338.68	344.40	331.47	344.27	353.64
nicht op GM	± 11.03	± 15.35	± 10.98	± 12.36	± 9.12	± 13.46	± 12.32
nicht operierte	339.28	340.35	340.99	330.03	338.28	335.90	347.22
Kontrolltiere	± 14.67	± 14.92	± 14.65	± 12.99	± 11.45	± 11.72	± 12.51

Tabelle 42: Kortikale Knochendichte (BMD_{crt}) des Metacarpus (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	419.72	422.13	426.36	432.73	430.42	429.61	426.18
Gliedmassen	± 9.14	± 7.98	± 8.01	± 9.63	± 8.58	± 8.50	± 6.98
kontralaterale	415.52	415.11	418.51	414.90	416.19	431.31	425.45
nicht op GM	± 6.99	± 7.14	± 7.92	± 6.74	± 8.10	± 10.20	± 10.43
nicht operierte	418.28	424.83	418.47	424.40	433.40	418.40	420.30
Kontrolltiere	± 9.97	± 8.52	± 7.32	± 7.84	± 7.52	± 6.08	± 6.12

Tabelle 43: Trabekuläre Knochendichte (BMD_{trab}) des Metacarpus (Angaben in mg/cm^3).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	310.10	314.56	294.29	290.92	297.03	326.76	336.56
Gliedmassen	± 17.32	± 14.99	± 11.39	± 18.02	± 14.10	± 16.78	± 12.34
kontralaterale	324.51	314.28	310.60	327.10	306.90	296.39	347.77
nicht op GM	± 11.34	± 19.14	± 11.40	± 11.91	± 18.32	± 24.55	± 15.45
nicht operierte	317.02	316.91	331.43	307.51	290.64	328.83	340.83
Kontrolltiere	± 18.47	± 20.01	± 18.10	± 25.85	± 26.66	± 15.21	± 12.64

Tabelle 44: Totaler Mineralstoffgehalt (BMC_{tot}) des Metacarpus (Angaben mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	133.85	143.55	126.96	138.02	138.76	149.81	154.46
Gliedmassen	± 9.48	± 8.09	± 7.24	± 7.25	± 4.57	± 6.84	± 6.07
kontralaterale	143.05	140.97	143.14	149.02	141.50	143.48	160.00
nicht op GM	± 5.05	± 9.70	± 6.10	± 7.03	± 7.10	± 8.90	± 7.39
nicht operierte	143.95	135.00	145.72	143.33	134.70	152.17	157.03
Kontrolltiere	± 12.19	± 12.76	± 9.66	± 10.83	± 11.51	± 7.82	± 8.98

Tabelle 45: Kortikaler Mineralstoffgehalt (BMC_{crt}) des Metacarpus (Angaben mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte	70.24	80.15	63.69	79.74	78.26	91.40	97.43
Gliedmassen	± 12.90	± 11.66	± 8.85	± 9.11	± 6.20	± 11.13	± 8.50
kontralaterale	78.57	77.20	78.43	82.39	75.28	86.98	97.24
nicht op GM	± 8.75	± 11.71	± 9.92	± 10.68	± 9.13	± 11.79	± 13.46
nicht operierte	86.58	76.42	78.88	81.98	77.15	84.45	91.72
Kontrolltiere	± 12.77	± 14.45	± 12.99	± 12.00	± 12.45	± 10.46	± 10.08

Tabelle 46: Trabekulärer Mineralstoffgehalt (BMC_{trab}) des Metacarpus (Angaben mg/cm).

Gruppe	Tag -1	Tag 2	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 18	Tag 22
operierte Gliedmassen	57.21 ± 4.65	60.00 ± 4.32	51.90 ± 3.14	53.29 ± 4.41	55.02 ± 3.40	62.06 ± 3.88	65.60 ± 3.42
kontralaterale nicht op GM	61.63 ± 2.83	59.76 ± 4.81	59.23 ± 3.10	63.76 ± 3.31	59.48 ± 4.88	56.23 ± 5.88	69.18 ± 3.43
nicht operierte Kontrolltiere	60.47 ± 6.34	57.56 ± 6.31	63.53 ± 5.09	59.28 ± 6.75	53.77 ± 6.56	65.21 ± 3.95	68.33 ± 4.50

9. Danksagung

Mein herzlichster Dank richtet sich an alle, die in irgend einer Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Im Besonderen bedanke ich mich bei:

PD Dr. A. Liesegang für die Überlassung des interessanten Themas, die Mithilfe bei der Durchführung des Versuches, die fachliche Unterstützung und die stets speditiven Korrekturen dieser Arbeit

Prof. Dr. B. von Rechenberg für die Übernahme des Korreferates, die Durchführung der Operationen, die Durchsicht dieser Arbeit und viele gute Tipps bei der Literaturrecherche

Prof. Dr. M. Wanner für die Möglichkeit, am Institut zu dissertieren

Prof. Dr. J. A. Auer für die Durchführung der Operationen und viele fachliche Anregungen

Dr. M. Hilbe und K. Zlinsky vom Institut für Pathologie für die Anfertigung der immunhistochemischen Schnitte, die geduldige Instruktion bei deren Auswertung und für die Beantwortung unzähliger Fragen

I. Mittner und B. Schneider, den Laborantinnen des Institutes, für die Durchführung der Analysen und für viele aufmunternde Gespräche

A. Merkle und W. Holdener, den Chauffeuren, für den stets zuverlässigen Transport der Lämmer vom Strickhof ins Tierspital

B. Gerzner und P. Müller, den Metzgern, für die tadellose und unkomplizierte Schlachtung der Lämmer

U. Müller, dem Präparator, für die Mithilfe beim Sägen der Knochen

den Fohlenbesitzern **D. Spitznagel, Dr. W. Haas, Dr. F. Hodel, C. Nievergelt, S. Schön, Dr. M. Schmid, E. Dünner, N. Reichmuth, O. Kocherhans und N. Gathen** für ihre Bereitschaft, mir ihre Fohlen zur Blutentnahme zu überlassen

meinen Mitdotorandinnen **A. Philipp, B. Zottmeier, S. Schär, K. Lauff, S. Weilenmann und M. Signer** für ihre moralische, aber auch tatkräftige Unterstützung

G. Eger Brunkow vom Sekretariat für die Unterstützung und für viele wertvolle, oft humorvolle Gespräche

Ganz besonders bedanke ich mich bei meinen **Eltern**, E. und H. Giezendanner-Züllig, die mich während meiner Studienjahre, aber auch in der Zeit der Erstellung dieser Dissertation, stets bedingungslos unterstützt und ermutigt haben.

Lebenslauf

Name	Regula Giezendanner
Geburtsdatum	12. Oktober 1968
Nationalität	CH
Heimatorte	Neunforn TG; Ebnet Kappel, Kappel SG
1975 - 1981	Primarschule Amriswil
1981 - 1984	Sekundarschule Amriswil
1984 - 1989	Lehrerseminar Kreuzlingen, Abschluss als dipl. Primarlehrerin
1989 - 1992	Primarlehrerin in Neunforn TG
1992 - 1995	Heilpädagogisches Seminar Zürich, Abschluss als dipl. Logopädin
1995 - 2001	Logopädin im Teilpensum in NeunfornTG, Uesslingen TG, Warth-Weiningen TG
1999 - 2001	Thurgauisch-Schaffhauserische Maturitätsschule für Erwachsene, Maturitätsabschluss
2001 - 2006	Studium der Veterinärmedizin an der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
2006	Eidgenössisches Staatsexamen als Tierärztin an der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
2007 - 2008	Assistentin am Institut für Tierernährung der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
2009 -	Tierärztin beim BGK (Beratungs- und Gesundheitsdienst für Kleinwiederkäuer), Niederönz
März 2009	